CORNELIU V. COTEA

BIOLOGIE CELULARĂ
EMBRIOLOGIE GENERALĂ
HISTOLOGIE GENERALĂ

editura
Tehnopress

Referenţi ştiinţifici:

Prof.univ.dr.doc.şt. **Victoria ZINCA**
Membru emerit al Academiei Internaţionale de Citologie
Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară
„Ion Ionescu de la Brad" Iaşi

Prof.univ.dr.doc.şt. **Gioconda DOBRESCU**
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa" Iaşi

© Prof.univ.dr. **Corneliu V. COTEA** – 2001; 2004
Premiul Academiei Române – 2003

EDITURA TEHNOPRESS
Str. Zimbrului nr.17
6600 Iaşi - România
Tel.: 032 260092
E-mail: tehnopress@k.ro

Coperta: **Marius GÂNDAC**
Culegere computerizată: **Iustin COTEA, Elena-Irina VIERU**
Tehnoredactarea: **Mircea SECHELEA**

ISBN 973-8048-58-3

Scanned with OKEN Scanner

CORNELIU V. COTEA

BIOLOGIE CELULARĂ
EMBRIOLOGIE GENERALĂ
HISTOLOGIE GENERALĂ

EDIŢIA A II-A

Scanned with OKEN Scanner

C U P R I N S

BIOLOGIE CELULARĂ 17

1. CARACTERELE GENERALE ALE CELULELOR 17
   1.1. Formele şi dimensiunile celulelor 17
   1.2. Volumul celulelor 19
   1.3. Compartimentarea celulei şi organitele celulare 19

2. MEMBRANA CELULARĂ 24
   2.1. Plasmalema 24
   2.2. Glicocalixul (glicolema) 29
   2.3. Citoscheletul membranei celulare 31
   2.4. Expansiuni ale suprafeţei celulare 32
   2.5. Joncţiunile intercelulare 35
      2.5.1. Joncţiuni de adezivitate (desmozomii) 35
      2.5.2. Joncţiuni impermeabile (joncţiuni strânse) 36
      2.5.3. Joncţiunile de comunicare : joncţiuni permeabile şi sinapse 38
      2.5.4. Complexe joncţionale 40
   2.6. Receptorii din membrane 40
      2.6.1. Tipuri de receptori 41
      2.6.2. Mecanismul de acţiune al receptorilor 42
   2.7. Schimburile prin membrană 44
      2.7.1. Transportul transmembranar 44
         2.7.1.1. Transportul pasiv 44
         2.7.1.2. Transportul activ 45
      2.7.2. Transportul în masă (prin vezicule) 46
         2.7.2.1. Endocitoza particulelor fără fluid (fagocitoza) 47
         2.7.2.2. Endocitoza particulelor în faza fluidă (pinocitoza) 49

Scanned with OKEN Scanner

3. CITOPLASMA 52
3.1. Matricea citoplasmatică 52
3.2. Citoscheletul 53
3.2.1. Microfilamentele intermediare 55
3.3. Microtrabeculele 56
3.4. Organitele mişcării celulare 56
3.4.1. Microfilamentele 56
3.4.1.1. Microfilamentele de actină 56
3.4.1.2. Microfilamentele de miozină 58
3.4.1.3. Funcţiile microfilamentelor de actină şi miozină 60
3.4.2. Microtubulii 62
3.4.2.1. Centriolii şi corpusculii bazali ai cililor şi flagelilor 63
3.4.2.2. Fusul de diviziune 65
3.4.3. Bazele moleculare ale motilităţii celulare 65
3.4.3.1. Mişcări celulare având la bază sistemul motil actină-miozină 66
3.4.3.2. Mişcări celulare având la bază sistemul motil microtubul-dineină 71
3.5. Organite generatoare de energie – mitocondriile 72
3.6. Organitele sintezei şi secreţiei celulare 77
3.6.1. Ribozomii 77
3.6.2. Reticulul endoplasmic 81
3.6.3. Complexul Golgi 85
3.6.3.1. Ciclul secretor 90
3.7. Organitele digestiei celulare 93
3.7.1. Lizozomii 93
3.7.2. Peroxizomii 97
3.8. Incluziunile (pseudoincluziunile) citoplasmatice 99

4. NUCLEUL 104
4.1. Caracterele morfologice generale 104
4.2. Membrana nucleară (nucleolema) 108
4.3. Matricea nucleară (nucleoplasma, sucul nuclear) 110
4.4. Cromatina 112

Scanned with OKEN Scanner

4.4.1. Cromozomii 116
4.4.1.1. Compoziţia chimică, ultrastructura şi organizarea moleculară a cromozomilor eucariotici 119
4.5. Nucleolul 123
4.5.1. Funcţiile nucleolului 127

5. REPRODUCEREA CELULARĂ 128
5.1. Ciclul celular 129
5.2. Diviziunea celulară 132
5.2.1. Diviziunea directă (amitoza) 133
5.2.2. Diviziunea indirectă 133
5.2.2.1. Mitoza 133
5.2.2.2. Meioza 137
5.3. Bazele moleculare ale reproducerii 144
5.3.1. Replicarea ADN 144
5.3.1.1. Particularităţile replicării la eucariote 149
5.3.2. Transcrierea mesajului genetic 149
5.3.2.1. Conceptul de ARN-mesager 149
5.3.2.2. Mecanismul molecular al biosintezei ARN 151
5.3.3. Traducerea mesajului genetic în biosinteza proteinelor 153
5.3.3.1. ARN de transfer sau solubil 154
5.3.3.2. ARN ribozomal 157
5.3.3.3. Mecanismul molecular al sintezei proteinelor în ribozomi 157

6. DIFERENŢIEREA, ÎMBĂTRÂNIREA ŞI MOARTEA CELULEI ... 160
6.1. Diferenţierea celulară 160
6.1.1. Caracterele generale ale celulelor diferenţiate 162
6.2. Îmbătrânirea şi moartea celulei 163
6.2.1. Moartea celulei 165

Scanned with OKEN Scanner

7. MATRICEA EXTRACELULARĂ 167
7.1. Membrana bazală 168
7.2. Fibrele intercelulare 169
7.3. Substanţa fundamentală a matricei extracelulare 175

EMBRIOLOGIE GENERALĂ 180

1. GAMETOGENEZA 181
1.1. Spermatogeneza 181
1.1.1. Spermocitogeneza 182
1.1.2. Spermiogeneza 184
1.1.2.1. Spermatozoidul 184
1.2. Ovogeneza şi foliculogeneza la mamifere 189
1.2.1. Ovogeneza 189
1.2.2. Foliculogeneza 190
1.2.2.1. Lichidul folicular 201
1.2.2.2. Glanda interstiţială 201
1.2.2.3. Ovulaţia 203
1.2.3. Ovulul la mamifere 205
1.3. Foliculogeneza şi ovogeneza la păsări 207
1.3.1. Foliculul terţiar (ovulator) 209
1.3.1.1. Ovulaţia 211
1.3.2.Foliculii atretici 211
1.3.3.Foliculii postovulatori 212
1.3.4. Formarea oului în oviduct 212

2. FECUNDAŢIA 215
2.1. Mecanismul fecundaţiei 216

3. SEGMENTAŢIA 218
3.1. Nidaţia 220

4. GASTRULAŢIA 220
4.1. Formarea ţesuturilor şi organelor din cele trei foiţe embrionare 222

Scanned with OKEN Scanner

4.2. Anexele embrionare la mamifere 223
4.2.1. Vezicula ombilicală (vezicula vitelină) 223
4.2.2. Amniosul 224
4.2.3. Alantoida 224
4.2.4. Placenta 224

5. DEZVOLTAREA EMBRIONARĂ LA PĂSĂRI 228
5.1. Segmentaţia 229
5.2. Gastrulaţia 230
5.3. Anexele embrionare la păsări 232
5.3.1. Amniosul 232
5.3.2. Vezicula vitelină 233
5.3.3. Alantoida 233
5.3.4. Corionul (seroasa lui Bäer) 234

HISTOLOGIE GENERALă 235

1. ŢESUTUL EPITELIAL 235
1.1. Histogeneza 235
1.2. Epitelii de acoperire 236
1.2.1. Clasificare 236
1.2.2. Caractere generale 238
1.2.3. Tipuri de epitelii de acoperire 241
1.2.3.1. Epitelii simple (unistratificate) 241
1.2.3.2. Epitelii stratificate (pluristratificate) 244
1.3. Epitelii glandulare 248
1.3.1. Histogeneza glandelor 248
1.3.2. Clasificarea glandelor 249
1.3.2.1. Glandele exocrine 251
1.3.2.2. Glandele endocrine 255
1.4. Epitelii senzoriale 259
1.5. Mioepitelii 259

Scanned with OKEN Scanner

2. ŢESUTUL CONJUNCTIV 260
2.1. Histogeneza 260
2.2. Elementele componente ale ţesuturilor conjunctive propriu-zise 262
2.2.1. Celulele conjunctive 264
2.2.1.1. Celula mezenchimală 265
2.2.1.2. Celula reticulară nediferenţiată 266
2.2.1.3. Fibroblastul ⟶ fibrocitul 266
2.2.1.4. Adipocitul 268
2.2.1.5. Melanocitul (celula pigmentară) 271
2.2.1.6. Microfagul 272
2.2.1.7. Eozinocitul 272
2.2.1.8. Mastocitul 272
2.2.1.9. Macrofagele 275
2.2.1.10. Plasmocitul 281
2.2.2. Substanţa fundamentală 282
2.2.3. Fibrele conjunctive 284
2.3. Celula endotelială, capilarele 286
2.4. Clasificarea ţesuturilor conjunctive propriu-zise 290
2.4.1. Ţesuturile conjunctive embrionare (de tranziţie) ... 291
2.4.1.1. Ţesutul mezenchimal 291
2.4.1.2. Ţesutul conjunctiv gelatinos (mucos – „ gelatina Wharton") 292
2.4.2. Ţesuturile conjunctive adulte (propriu-zise) 292
2.4.2.1. Ţesutul conjunctiv lax 292
2.4.2.2. Ţesutul conjunctiv reticular 293
2.4.2.3. Corionul citogen 294
2.4.2.4. Ţesutul adipos 294
2.4.2.5. Ţesutul pigmentar..... 295
2.4.2.6. Ţesuturile conjunctive semiorientate 295
2.4.2.7. Ţesuturile conjunctive fibroase propriu-zise 298
2.4.2.8. Ţesutul conjunctiv de granulaţie (de cicatrizare) 302
2.5. Ţesuturile conjunctive semidure şi dure 302
2.5.1. Ţesuturile cartilaginoase 302
2.5.1.1. Condrogeneza 307

Scanned with OKEN Scanner

2.5.2. Ţesutul osos 307
2.5.2.1. Ţesutul osos compact 313
2.5.2.2. Ţesutul osos spongios 315
2.5.2.3. Periostul 315
2.5.2.4. Osteogeneza (osificarea, formarea osului) 316
2.5.2.5. Măduva osoasă 319

3. ŢESUTUL SANGUIN 320
3.1. Hematiile (eritrocitele) 321
3.2. Leucocitele 325
3.2.1. Neutrofilul 326
3.2.2. Eozinofilul 328
3.2.3. Bazofilul 330
3.2.4. Monocitul 330
3.2.5. Limfocitul 332
3.2.5.1. Limfocitul B 336
3.2.5.2. Limfocitul T 337
3.2.5.3. Limfocitul citolitic 338
3.3. Plachetele sanguine (trombocitele) 339

4. ŢESUTUL MUSCULAR 342
4.1. Histogeneza 343
4.2. Ţesutul muscular striat de tip scheletic 344
4.2.1. Sarcolema 345
4.2.1.1. Tubii T 345
4.2.2. Nucleii 347
4.2.3. Sarcoplasma 347
4.2.3.1. Reticulul sarcoplasmic de tip neted 349
4.2.3.2. Miofibrilele (rabdofibrilele) 350
4.2.4. Histofiziologia fibrelor musculare striate 354
4.2.4.1. Placa motorie (inervaţia motorie a fibrelor musculare scheletice) 355
4.2.4.2. Fusul neuromuscular (inervaţia senzitivă a fibrelor musculare scheletice) ... 357
4.2.5. Structura muşchiului scheletic ca organ 358

Scanned with OKEN Scanner

4.3. Ţesutul muscular striat de tip cardiac 359
4.3.1. Celulele musculare cardiace comune 360
4.3.1.1. Sarcolema 361
4.3.1.2. Striile scalariforme Eberth 362
4.3.1.3. Sarcoplasma 363
4.3.2. Celulele musculare cardiace specifice (celulele nodale) 365
4.4. Ţesutul muscular neted 366
4.4.1. Sarcolema 367
4.4.2. Sarcoplasma 370

5. ŢESUTUL NERVOS 373
5.1. Histogeneza 373
5.2. Neuronul 375
5.2.1. Corpii Nissl (corpii tigroizi, ergastoplasma) 380
5.2.2. Neurofilamentele 380
5.2.3. Neurotubulii 381
5.2.4. Incluziile 381
5.2.5. Dendritele 382
5.2.6. Axonul 382
5.2.6.1. Fibra nervoasă 384
5.2.6.2. Nervii 388
5.2.6.3. Degenerescenţa şi regenerarea fibrei nervoase 389
5.2.7. Sinapsa 390
5.2.8. Terminaţiile nervoase receptoare 392

6. ŢESUTUL GLIAL 397
6.1. Celulele gliale 400

BIBLIOGRAFIE 403

Scanned with OKEN Scanner

PREFAŢĂ

Lucrarea „Biologie celulară, embriologie generală, histologie generală" este destinată în principal studenţilor în medicina veterinară, dar este utilă şi specialiştilor care lucrează în acest domeniu, precum medici veterinari, biotehnologi, zootehnişti şi biologi.

Structurarea generală a cărţii în *trei capitole*: *Biologie celulară, Embriologie generală* şi *Histologie generală,* are în vedere şi corelaţiile sale cu alte discipline (Anatomia, Biochimia, Fiziologia, Genetica, Microbiologia, Imunologia, Morfopatologia şi Reproducţia).

Biologia celulară este concepută ca o introducere în biologia animală, principalele sale părţi tratează suprafaţa celulară şi relaţiile cu mediul înconjurător, citoplasma ca sediu al desfăşurării proceselor vitale, nucleul ca centru de coordonare celular şi bazele celulare ale reproducerii, proliferării şi diferenţierii celulare. Acest capitol se doreşte a fi util şi unor cadre didactice de la disciplinele preclinice şi clinice.

Putem afirma că Biologia celulară românească şi-a câştigat în lume un real prestigiu şi prin contribuţiile pe care de-a lungul anilor le-au adus în această disciplină renumiţi histologi şi biologi români pe care i-au dat centrele universitare din Bucureşti, Iaşi, Cluj-Napoca, Târgu-Mureş, Timişoara, Craiova, Oradea şi Constanţa. Se cuvine un sentiment de recunoştinţă pentru medicul şi biologul american de origine română *George Emil Palade*, care în 1974 a obţinut *Premiul Nobel* pentru cercetările întreprinse în domeniul organizării structurale şi funcţionale a celulelor.

Embriologia generală prezintă etapele dezvoltării ontogenetice la mamifere şi păsări: gametogeneza, fecundaţia, segmentaţia, nidaţia, gastrulaţia, formarea ţesuturilor şi organelor din cele trei foiţe embrionare şi anexele embrionare la mamifere şi păsări.

Histologia generală abordează la microscopul optic şi cel electronic structura elementelor componente ale ţesuturilor: epitelial, conjunctiv, sanguin, muscular, nervos şi glial. În cadrul fiecărui subcapitol se tratează şi histogeneza fiecărui tip de ţesut.

Apariţia acestei lucrări o datorăm în parte şi tinerei Edituri *„Tehnopress"* care sperăm să contribuie şi la apariţia viitoarei cărţi „Histologie specială".

Autorul

Scanned with OKEN Scanner

Părinţilor mei

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

BIOLOGIE CELULARĂ

1. CARACTERELE GENERALE ALE CELULELOR

Celula (de la *latin. cella* = cameră, compartiment) este unitatea elementară a lumii vii, produs al evoluţiei, cu o structură complexă, aflată într-o relaţie de autonomie şi echilibru dinamic cu mediul înconjurător, principalele ei proprietăţi fiind creşterea, dezvoltarea şi autoreproducerea.

Există două arhetipuri celulare (gr. *arkhetupos* = model primitiv; introducerea noţiunii în biologia celulară aparţine lui G.E. Palade): *prokariotele* (*prokariot* = prenucleat; substanţa nucleară dispersată) şi *eukariotele* (*eukariot* = bine nucleat; nucleul bine individualizat). Din prokariote fac parte bacteriile şi algele albastre-verzi, iar eukariotele cuprind plantele şi animalele. Eukariotele pot fi unicelulare (protozoarele) sau pluricelulare (metazoarele), în timp ce prokariotele sunt numai unicelulare. Toate organismele unicelulare se numesc *protiste*. Celulele eukariote sunt mult mai mari decât prokariotele şi au în general un sistem complicat de membrane intracelulare care delimitează compartimente intracelulare. În unul din aceste compartimente (nucleul) este localizat genomul, care este astfel separat clar de restul celulei, reprezentat de citoplasmă. La prokariote, membranele intracelulare, practic lipsesc, astfel că genomul nu este separat de citoplasmă prin membrane, neavând un nucleu distinct.

În medicina veterinară, prokariotele sunt studiate în primul rând ca agenţi patogeni (bacteriile).

În cadrul biologiei celulare vor fi descrise eukariotele şi anume, celulele eukariote ce compun organismul animal.

1.1. Formele şi dimensiunile celulelor

Forma celulelor este controlată atât de factori externi, ca presiunea sau vâscozitatea mediului, cât şi de factori interni, ca activitatea funcţională, vârsta, vâscozitatea citoplasmatică, structura internă şi caracterele suprafeţei celulare. Forma celulelor variază cu localizarea şi tipul lor (fig. 1.1). Cu toate că iniţial toate celulele sunt rotunde, forma se modifică în cursul diferenţierii şi maturării celulelor, pentru a fi adaptată cât mai adecvat funcţiilor. Astfel, celulele contractile sunt fusiforme sau cilindrice, iar cele cu funcţie de conductibilitate au prelungiri. Există şi celule sferice (ovocitul), discoidale (hematia), cubice, prismatice, stelate, flagelate (spermatozoidul), pavimentoase etc.

BIBLIOTECA JUDEŢEANĂ
„GH. ASACHI"
IAŞI

971685

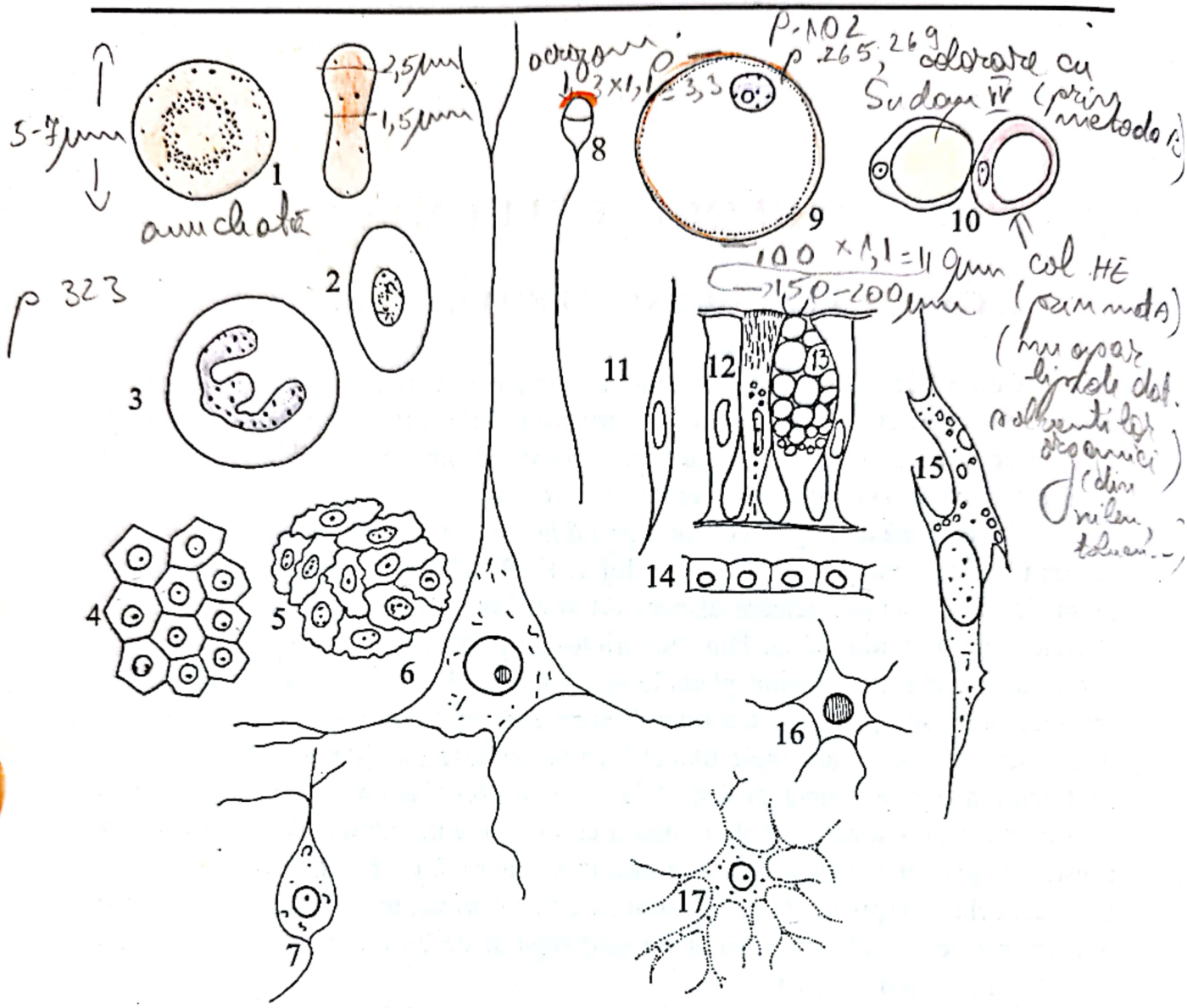


Fig. 1.1. ***Forme de celule***: 1.- hematie; 2.- eritrocit pasăre; 3.- neutrofil mamifer; 4.- celule din stratul mucos Malpighi; 5.- celule mezoteliale; 6.- neuron multipolar; 7.- celula Purkinje; 8.- spermatozoid; 9.- ovul; 10.- adipocite uniloculare; 11.- leiocit; 12.- enterocit; 13.- celula caliciformă; 14.-celule cubice; 15.- fibroblast; 16.- celula mezenchimală; 17.- melanocit.

Dimensiunile celulelor pot fi variate. Dimensiunile întâlnite în domeniul structurilor celulare sau în cel molecular se exprimă în următoarele unităţi de lungime: micrometrul (μm); nanometrul (nm) şi Angstromul (Å).

1 μm = 10^{-3} mm = 10^{-6} m

1 nm = 10^{-3} μm = 10^{-6} mm = 10^{-9} m

1 Å = 10^{-1} nm = 10^{-4} μm = 10^{-7} mm = 10^{-10} m.

În organismul animal, celulele au diferite dimensiuni: unele sunt mici (celulele din stratul molecular al scoarţei cerebrale 4-5 μm, hematiile 5-7 μm), altele ajung

Scanned with OKEN Scanner

la dimensiuni foarte mari (ovulul la mamifere 150-200 µm, ovulul de pasăre sau gălbenuşul de ou 3,5 cm, la struţ 10 cm). Majoritatea celulelor din organismul animal au dimensiunile cuprinse între 20-30 µm (celulele conjunctive, celulele epiteliale). Neuronii motori din coarnele ventrale ale măduvei rahidiene au dimensiunea de 150-200 µm (numai corpul celular – *pericarionul*), iar cu prelungirea (*axonul*) atinge dimensiunea de 1-1,5 m sau mai mult, în funcţie de talia animalului. Rabdocitul (fibra musculară striată de tip scheletic) are lungimea de 1-5-12 cm, în unii muşchi scheletici poate să ajungă la dimensiunea de 35 cm.

1.2. Volumul celulelor

Acesta variază între 200 µm³ şi 15000 µm³. În general, volumul celulelor este foarte constant pentru un anumit tip de celulă şi este independent de mărimea organismului. De exemplu, hepatocitele, nefrocitele, celulele musculare cardiace au mărimi similare la şobolan, câine, cal şi om. Diferenţele de masă la aceleaşi organe în cadrul diferitelor specii constau în numărul de celule pe care îl conţin şi nu în volumul acestora.

1.3. Compartimentarea celulei şi organitele celulare

O celulă eukariotă are trei componente: *membrana celulară* care limitează la exterior celula, *nucleul* şi *citoplasma*. Structura celulei variază foarte mult în funcţie de perioadele ciclului celular. În general, fiecare celulă are un *ciclu celular*, format din aşa-numita *interfază* sau *interchineză* (perioada dintre diviziunile celulare) şi din *diviziunea celulară*.

La microscopul electronic apare toată complexitatea ultrastructurii celulei eukariote în interfază (fig. 1.2.). Ceea ce frapează este multitudinea de membrane. Pe lângă plasmalemă, care poate prezenta expansiuni (*microvilozităţi, cili, flageli*) sau dispozitive de fixare intercelulară – *desmozomi* şi alte *joncţiuni*, se disting şi membrane intracelulare. Astfel, nucleul apare înconjurat de o membrană dublă prevăzută cu pori, membrana externă continuându-se cu o reţea de canale şi cavităţi ce formează *reticulul endoplasmic*, un adevărat sistem vacuolar. Acesta poate fi de tip *rugos* (având ataşaţi *ribozomii*) sau *neted* (fără ribozomi). Din reticulul endoplasmic se desprind vezicule ce fuzionează cu sacii *aparatului Golgi*, din care iau naştere apoi vezicule de secreţie ce-şi varsă conţinutul la exterior, după fuzionarea cu plasmalema, proces numit *exocitoză*. Dimpotrivă, din plasmalemă se formează vezicule de *endocitoză*, prin care pătrund substanţe de la exterior în citoplasmă. Astfel se evidenţiază un sistem complex de membrane intracitoplasmatice interconectante.

Scanned with OKEN Scanner

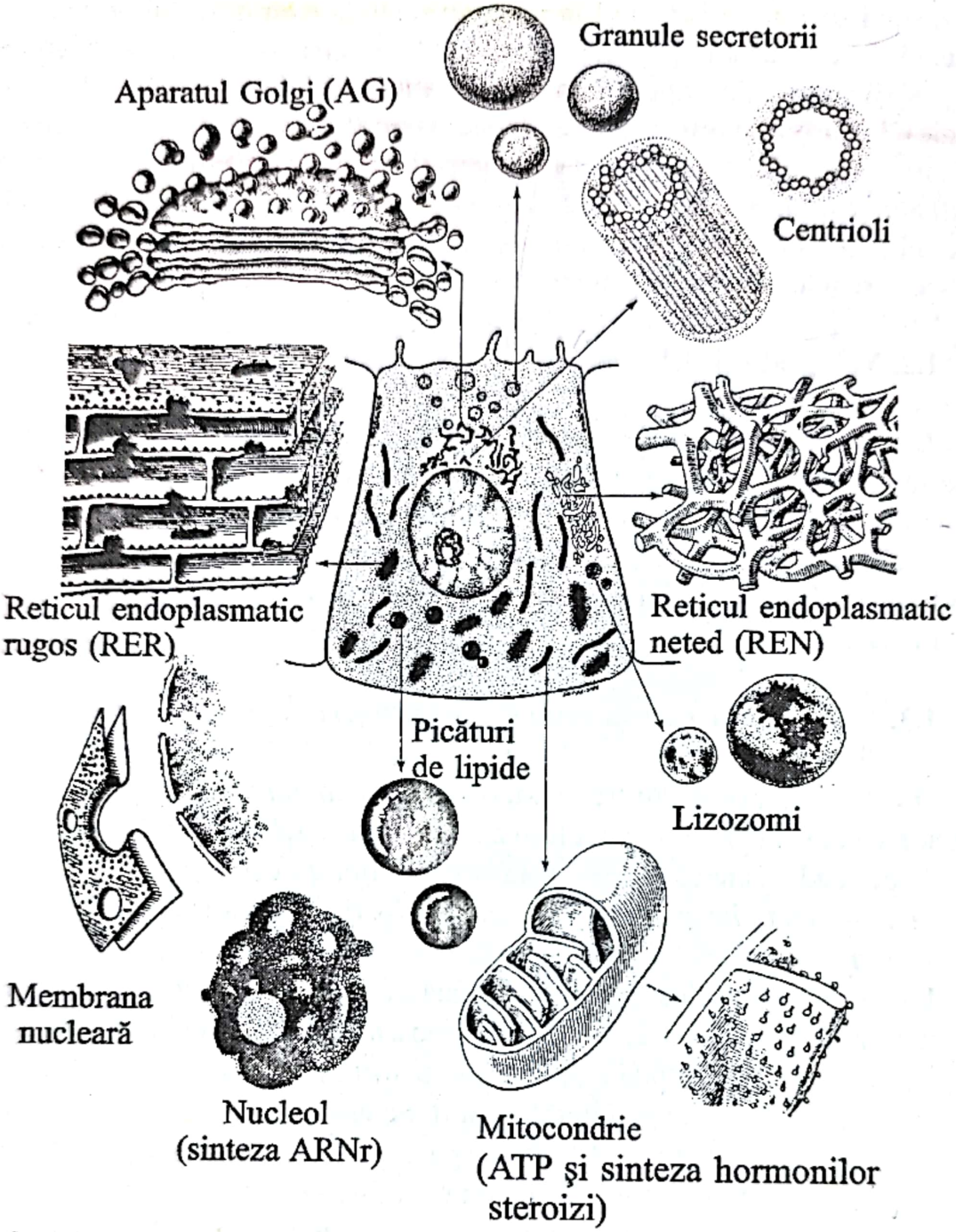


Fig. 1.2. ***Schema organizării microscopice a unei celule animale, înconjurată de organite văzute la microscopul electronic***

În citoplasmă se mai disting şi alte organite celulare: *mitocondriile* (având o membrană dublă cu creste la interior), *lizozomii* şi *peroxizomii* (înconjuraţi de o membrană simplă), *centriolii* (implicaţi în diviziunea celulară). De asemenea, în citosol sau *matricea citoplasmatică*, aflată în afara organitelor şi membranelor intracitoplasmatice se mai disting *ribozomii liberi* neataşaţi reticulului endoplasmic, *granule de glicogen*, *picături de lipide* şi diferenţierile citoplasmatice ale *citoscheletului* (*microfilamente* şi *microtubuli*).

Scanned with OKEN Scanner

Principalele componente ale celulei eucariote:

I. *Membrana celulară:*
- glicolema – 50 nm
- plasmalema – 7,5 nm
- citoscheletul membranic 5-9 nm

Expansiuni ale suprafeţei celulare:
- tranzitorii
  - pseudopodele
  - vălurile
  - → microfilamente
- permanente
  - microvilozităţile – 10-40 microfilamente
  - cilii 2 + (9 x 2)
  - stereocilii 0 + (9 x 2)
  - flagelul 2 + (9 x 2)
  - → microtubuli

II. *Citoplasma:*

Citoscheletul
- microfilamente de actină – 6 nm
- microfilamente intermediare – 10 nm
- microtubuli – 25 nm

Organitele:

A. mişcării celulare
- microfilamentele de
  - actină – 6 nm
  - miozină – 10 nm
  - *) sistemul actină-miozină (A-M)
- microtubulii – 25 nm
  - *) sistemul motil microtubul-dineină (M-D)

B. generatoare de energie – mitocondriile (M) – 0,5-1-3 µm

C. sintezei şi secreţiei
- ribozomii (R), granulele Palade 15-30 nm
- reticul endoplasmic
  - rugos, granular (RER; REG)
  - neted (REN)
- complexul Golgi (CG)

Scanned with OKEN Scanner

D. digestiei celulare
- lizozomii (L) 200-800 nm
- peroxizomii (P) 300-500 nm

Organitele delimitate de endomembrană de 6 nm:
M; RER; REN; CG; L; P.

Centrul celular – doi centrioli, fiecare organizat 0 + (9 x 2)

Corpusculul bazal al cilului 0 + (9 x 2) → microtubuli

Incluziunile:

1. Substanțe de rezervă
- proteine
- lipide
- glucide - glicogen
- vitamine (A, C)
- minerale
- cristaloide (Reinke)

2. Produși de elaborare
- granule de zimogen
- granule de mucigen
- hormoni
- granule de pigment *)

*) *Pigmenții pot fi:*

- endogeni
  - carotenoizi
    - lipocromi
    - luteina
    - carotenprotidele (caroten-albumina, iodopsina, rodopsina)
  - cromolipoizi
    - lipofuscina
    - hemofuscina
  - melanici (melanina)
  - cu nucleu tetrazolic
    - hemoglobina
    - mioglobina
    - hemosiderina

Scanned with OKEN Scanner

- exogeni
  - particule de praf, cărbune (*antracoza*)
  - particule de fier (*sideroza*)
  - particule de nisip, siliciu (*silicoza*)

3. produşi de dezasimilaţie – pigmentul lipofuscinic

III. Nucleul:

Nucleul este alcătuit din : membrana nucleară (nucleolema); matricea (nucleoplasma sau sucul nuclear); cromatina sau cromozomi şi nucleoli.

Membrana nucleară (nucleolema)
- dublă, fiecare de 6-10 nm
- cisterna perinucleară 15-30 nm
- complexul por, diametrul intern 50-90 nm
  - două inele (*anuli*) formate din opt granule
  - opt conuri structurate din agregate de fibrile
  - o granulă centrală
  - pachete de filamente nucleoplasmatice

Matricea nucleară (nucleoplasma)
- fracţiunea labilă
- matricea nucleară propriu-zisă
  - componentele membranoase ale învelişului nuclear
  - matricea fibrilară (*matrixin*)
  - componenta fibrilară nucleolară (*pars fibrosa*; *pars granulosa*)

Cromatina
- eucromatina
  - activă
  - permisivă
- heterocromatina
  - constitutivă
    - ADN înalt repetitiv
    - ADN mediu repetitiv
  - facultativă
    - autozomală
    - gonozomică (X – *corpusculul Barr* 1 µm; Y- *corpusculul F*)
- la ME
  - periferică, pe faţa internă a nucleolemei
  - insulară
  - asociată nucleolului (*pars cromosoma*)

Scanned with OKEN Scanner

Nucleolul
- pars fibrosa - fibrile
- pars granulosa – granule ARN (*ribozomi*)
- pars amorfa – componenta astructurată
- pars cromosoma ? (cromatina asociată nucleolului)

2. MEMBRANA CELULARĂ

Membrana celulară este alcătuită din trei componente (fig. 2.1.): *plasmalema* sau bistratul lipidic asociat cu proteine, în grosime de aproximativ 7,5 nm, ce reprezintă structura de bază a tuturor membranelor; *glicolema* sau *glicocalixul*, învelişul glucidic al celulei cu o grosime de 50 nm; *citoscheletul membranei*, o reţea de proteine, aşezate pe faţa internă a plasmalemei, cu grosimea de 5-9 nm.

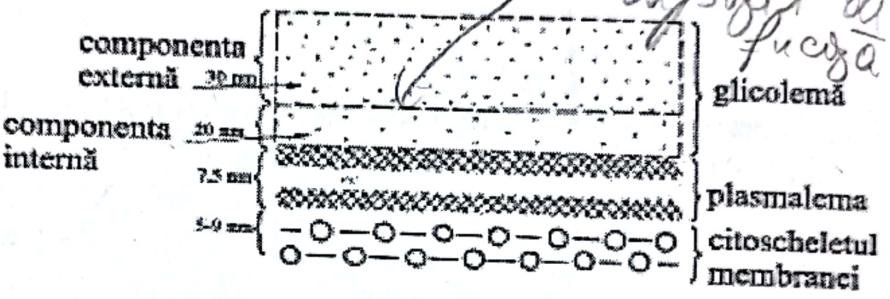


Fig. 2.1. ***Reprezentarea schematică a celor trei componente ale membranei celulare***

Grosimea membranei celulare este de ordinul nanometrilor, de aceea la microscopul optic, prezenţa ei poate fi doar intuită, apărând ca o interfaţă între celulă şi mediul extracelular.

2.1. Plasmalema

La microscopul electronic, la mărire mică (x 10000) ea este vizualizată ca o linie unică electronodensă. La o mărire corespunzătoare (x 100000), când planul secţiunii este perpendicular pe planul membranei, aceasta are o structură caracteristică, trilaminată de 7,5 nm, constând din două benzi dense, fiecare cu grosimea de 2 nm separate de o bandă clară cu grosimea de 3,5 nm. Celelalte membrane ale organitelor citoplasmatice (endomembranele) au acelaşi aspect general electronomicroscopic, cu dimensiunea de 6 nm. Această structură stratificată a fost observată de ROBERTSON (1958) şi numită de el membrană „unit" (engl. *unit* = etalon, unitate, structură compozită, agregat). Benzile dense ar corespunde la două straturi proteice, iar zona clară dintre acestea, stratului dublu lipidic.

Scanned with OKEN Scanner

În compoziţia chimică a plasmalemei intră : lipidele complexe, proteinele şi glucidele.

Considerăm că trecerea în revistă a tipurilor de lipide din plasmalemă, a proteinelor acestora şi discutarea proteinelor din membrană, este de mare importanţă pentru a înţelege relaţia structură-funcţie la nivel molecular, adică tocmai obiectul biologiei moleculare a membranelor.

Principala componentă structurală a plasmalemei este un bistrat de molecule lipidice *amfipatice* (amfifile) şi anume *fosfolipide*, *glicolipide* şi *colesterol*, ce apar în raportul cantitativ 70 : 5 : 25. Lipidele complexe (fosfolipide şi glicolipide) sunt componente importante în structura membranelor celulare. Structura lor corespunde perfect funcţiei. Ele au molecula *amfifilă (amfipatică)*, adică prezintă un *„cap" hidrofil* (gruparea polară) şi o *„coadă" hidrofobă* (cele două resturi de acizi graşi esterificate pe scheletul glicerinei) (fig. 2.2 A). În apă aceste molecule amfifile se asociază, formând micelii (fig. 2.2 B), deoarece radicalii de hidrocarbură trebuie ţinuţi înafara contactului cu apa. Forma cea mai stabilă a micelilor în cazul fosfolipidelor şi glicolipidelor este cea a unui strat dublu lipidic în care grupările polare sunt la exterior în contact cu apa, iar lanţurile de acizi graşi se află la interior (fig. 2.2 C).

Fosfolipidele formează marea majoritate a lipidelor din plasmalemă (70%) şi cuprind *fosfogliceride* (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinozitol) şi *sfingolipide*.

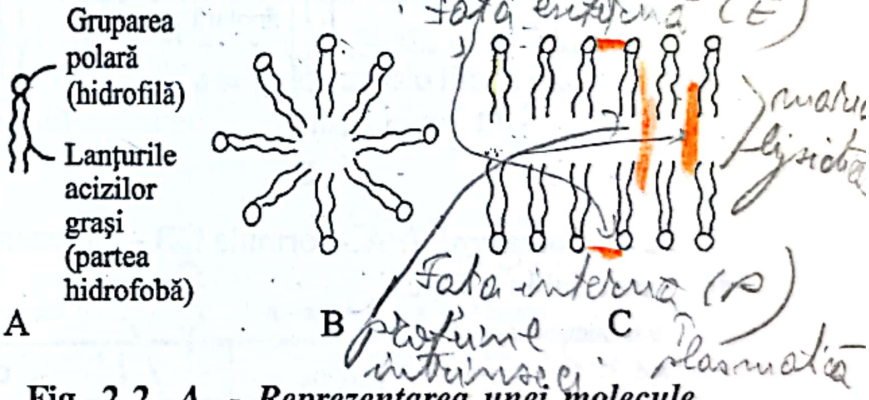


Fig. 2.2. *A. - Reprezentarea unei molecule lipidice amfifile. B. - Micelă sferică de lipide amfifile. C. - Stratul dublu lipidic*

Pentru a înţelege mai bine molecula amfifilă de fosfolipide, în fig. 2.3 sunt reprezentate două molecule fosfolipidice, întâlnite mai frecvent în membranele biologice : *fosfatidilcolina* (lecitina) şi *fosfatidiletanolamina*. Fiecare moleculă are aspectul unui „cui", în care capul (alcătuit din reziduurile de *colină* sau respectiv etanolamină împreună cu fosfatul) este hidrofil şi este denumit *grup polar* pentru că el poartă sarcini electrice. Resturile de acizi graşi sunt hidrofobe şi sunt desemnate ca segmentul *apolar* al moleculei. *Glicolipidele* (5%) sunt reprezentate de gangliozide ce conţin unul sau mai multe resturi de *acid sialic* (*acid N-acetil-neuraminic*), care conferă sarcină electrică negativă.

Cea mai mare contribuţie la realizarea unui bilanţ general negativ al suprafeţei celulelor îl au grupările polare ale fosfolipidelor, glicoproteinelor sulfatate, glicozoaminoglicanii şi, îndeosebi radicalii carboxilici ai *acidului sialic*.

Colesterolul este o altă lipidă majoră din plasmalemă (fig. 2.4), în proporţie de 25%.

Scanned with OKEN Scanner

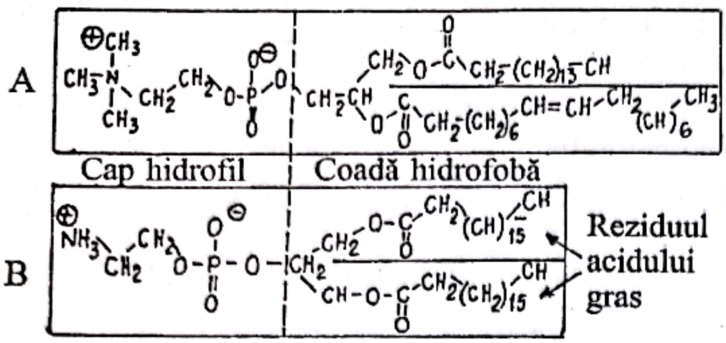


Fig. 2.3. ***Formula chimică a două molecule de fosfolipide***
A.-fosfatidilcolină ; B.- fosfatidiletanolamină.

Proteinele din plasmalemă sunt prezente pe feţele laterale ale stratului bimolecular de lipide (*proteine extrinseci*) şi incluse parţial sau străbat sectorul hidrofob al lipidelor şi în acest caz se numesc *proteine intrinseci (integrale)*. (Fig. 2.5).

Proteinele extrinseci sunt distribuite pe o faţă sau pe alta a continuumului lipidic (pe faţa internă -P- plasmatică, sau pe faţa externă – E) şi realizează prin

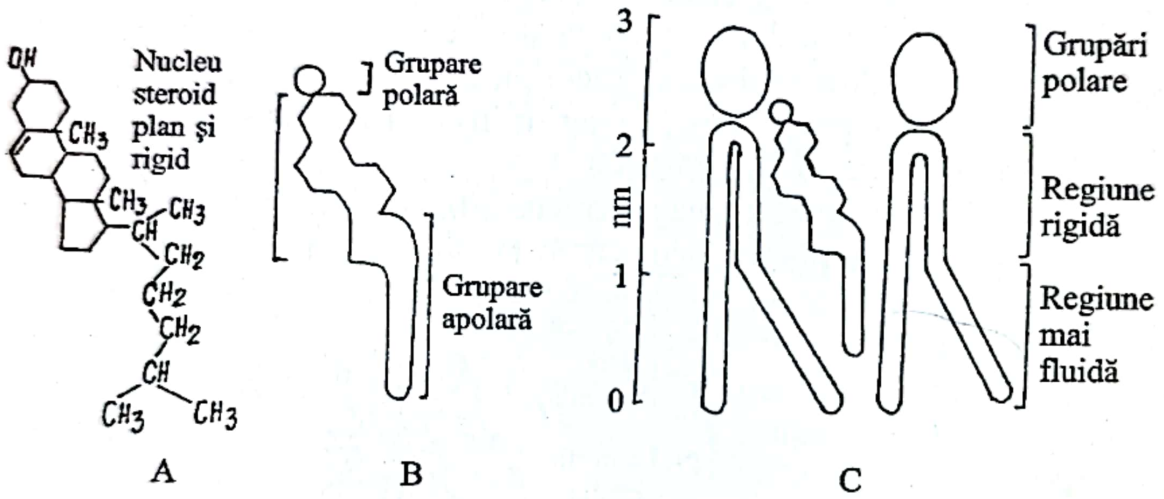


Fig. 2.4. ***Colesterolul.*** A.- formula ; B.- reprezentare simplificată ; C.- intercalare în stratul dublu lipidic.

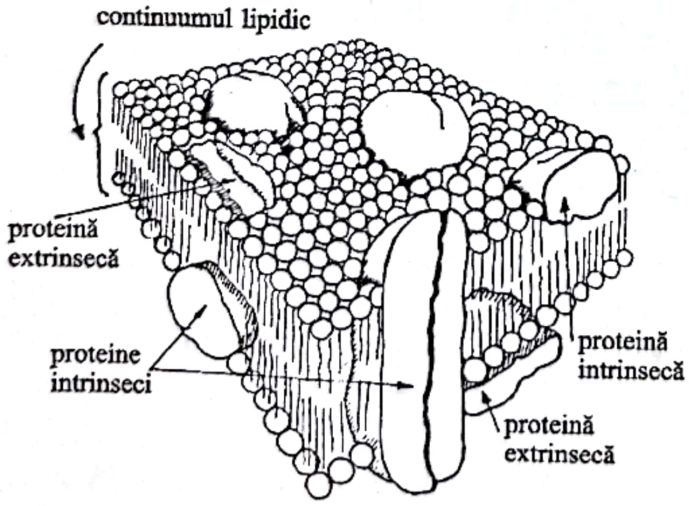


Fig. 2.5. ***Distribuţia proteinelor extrinseci şi intrinseci în plasmalemă***

suprafeţele lor legături hidrofile cu capetele hidrofile ale continuumului lipidic. Proteinele extrinseci sunt mult mai numeroase pe faţa P, unde edifică *citoscheletul* plasmalemei. Proteinele de pe faţa externă (E) a stratului bimolecular de lipide sunt *glicoproteine* care se prelungesc pe distanţe mai scurte sau mai adânci în *glicolemă*, iar pe firul lor polipeptidic se ataşează fragmentele oligozaharidice (galactoza, manoza, fucoza, galactozamina, glucozamina, acidul sialic).

Scanned with OKEN Scanner

Proteinele intrinseci se extrag foarte greu din continuumul lipidic, deoarece realizează cu acesta, atât legături hidrofile, cât şi legături hidrofobe. Ele se află incluse în continuumul lipidic hidrofob (fig. 2.6). Aceste proteine sunt molecule mici amfifile ce formează micelii în apă.

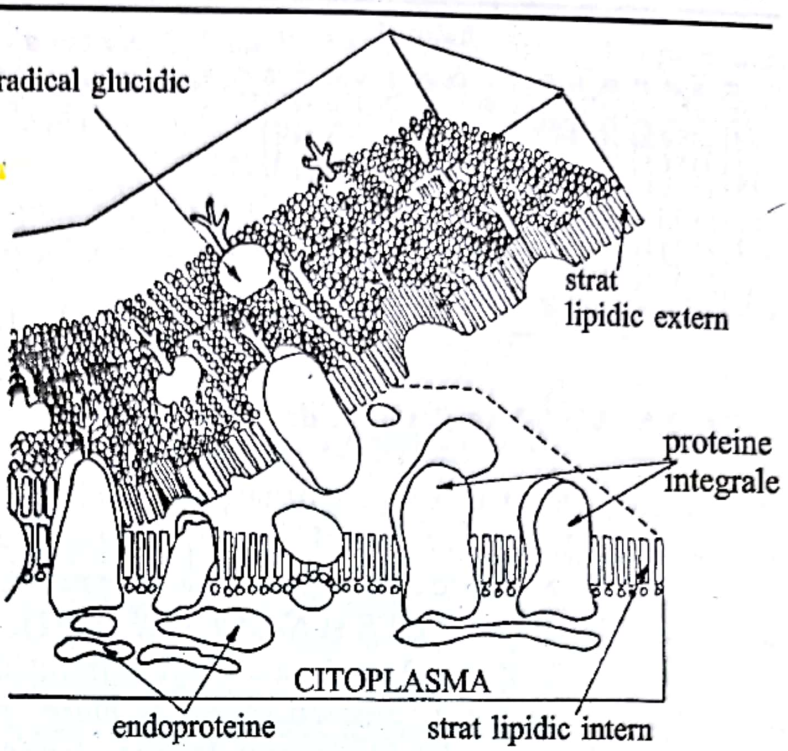


Fig. 2.6. ***Proteinele intrinseci din bistratul lipidic***

Glucidele din plasmalemă sunt reprezentate de hexoze, hexozamine şi acid sialic (fig. 2.7). Resturile de acid sialic se află la capătul lanţurilor oligozaharidice şi ele dau sarcină negativă suprafeţei celulelor eucariote.

Toate proteinele poartă pe ectomeniul lor lanţuri oligozaharidice, fiind deci glicoproteine şi respectiv, glicolipide. Lanţurile oligozaharidice sunt deci ancorate de versantul extern al plasmalemei, formând un înveliş al suprafeţei celulare, cu aspect pufos, numit *glicocalix* (înveliş dulce). Nu se poate trasa o limită de demarcaţie între glicocalix şi substanţa din spaţiul extracelular, numită *matricea extracelulară*, în compoziţia căreia predomină moleculele de glucide, asociate cu proteine, sub forma proteoglicanilor şi a glicoproteinelor.

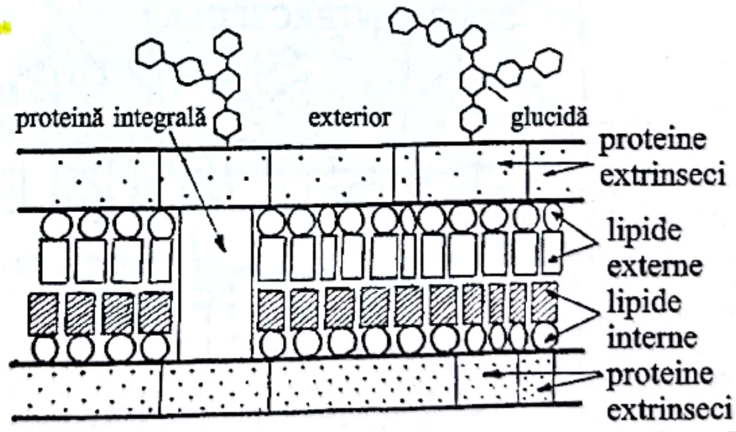


Fig. 2.7. ***Dispoziţia glucidelor de pe faţa E (externă) a plasmalemei***

După modelul „unit" de plasmalemă (*ROBERTSON*, 1958), toate membranele plasmatice au o organizare ultrastructurală unitară după tipul trilaminat, care implică o foiţă centrală clară, flancată de două foiţe dense la fluxul de electroni în grosime totală de 7,5 nm (fig. 2.8) şi străbătută de pori cu diametrul de 2 nm. Banda clară (luminoasă) din membrana „unit" corespunde radicalilor de acizi graşi din fosfolipidele bistratului, iar cele două benzi dense reprezintă grupările polare hidrofile ale fosfolipidelor şi parţial, proteinele asociate membranei. În ţesuturile secţionate, banda clară a

Scanned with OKEN Scanner

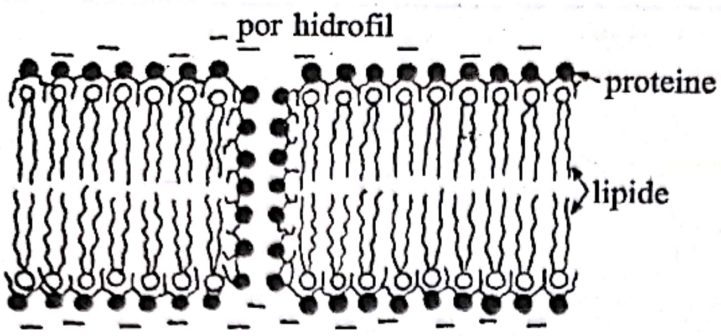


Fig. 2.8. *Modelul trilaminat de plasmalemă*

membranei „unit" apare continuu, deşi ea ar trebui să fie întreruptă din loc în loc de numeroasele proteine transmembranare (fig. 2.9).

Acestea nu apar datorită lipsei unui contrast adecvat. Domeniile hidrofobe ale proteinelor transmembranare asemănătoare cu radicalii de acizi graşi ai fosfolipidelor, nu pot fi contrastate cu procedeele uzuale. Modelul membranei „unit" este incomplet, deoarece ignoră, atât dinamismul moleculelor componente, cât şi ideea unor proteine transmembranare. Aceste critici au fost înlăturate prin teoria *mozaicului fluid*, susţinută de *SINGER* (1971); *SINGER* şi *NICOLSON* (1972). După acest model, proteinele integrale din plasmalemă ar fi incluse în stratul dublu lipidic, la fel ca nişte *„icebergiuri"* ce plutesc pe ocean. Această *„mare lipidică"* este concepută fluidă, deci cu lipidele stratului dublu în stare de cristal lichid. Bistratul lipidic este fluid, la temperatura corpului, iar celulele îl menţin fluid când temperatura înconjurătoare se schimbă. Ele controlează vâscozitatea bistratului, modificând radicalii de acizi graşi din fosfolipidele constituiente. Acizii graşi cu lanţuri scurte sau cei înalt nesaturaţi fac să scadă vâscozitatea.

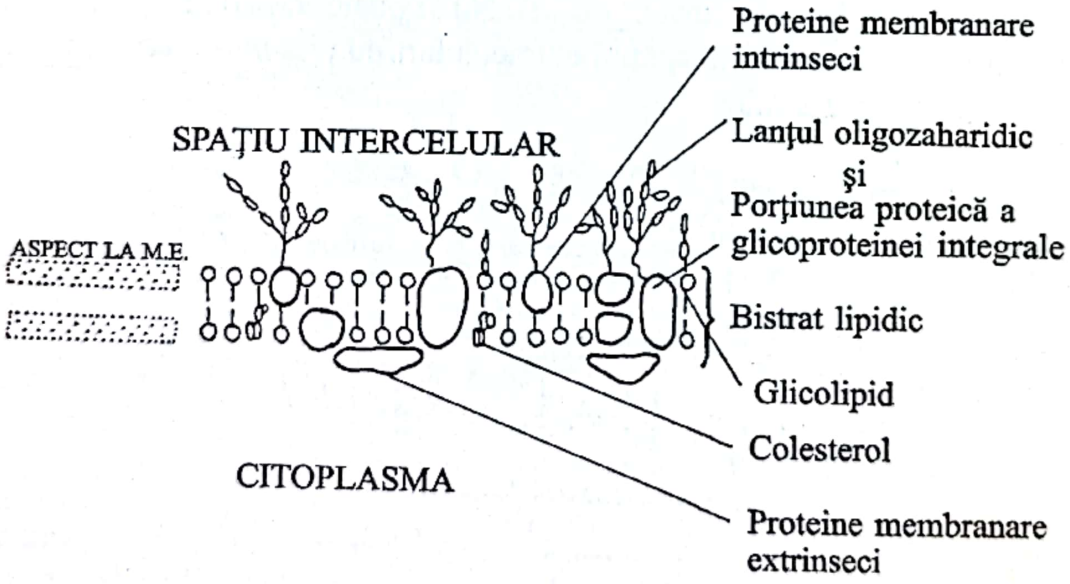


Fig. 2.9. *Schema arhitecturii moleculare a membranei celulare*

Datorită fluidităţii, moleculele lipidice, ca şi moleculele de proteine integrale difuzează liber în planul membranei, executând mai ales mişcări de *translaţie* laterală şi mişcări de *rotaţie* în jurul propriei axe. Mişcările de *flip flop* (engl. *flip flop* = salt

Scanned with OKEN Scanner

mortal), adică de răsturnare, sunt extrem de lente în cazul moleculelor de lipide ale bistratului, aceste mişcări se soldează cu trecerea lor dintr-un strat în altul.

Proprietăţile generale ale plasmalemei (şi ale tuturor membranelor din celulă) pot fi explicate prin modelul *mozaicului fluid*, conform căruia proteinele integrale văzute ca piesele unui mozaic, plutesc singure sau agregate în bistratul lipidic fluid. Fluiditatea membranei face posibilă expansiunea ei şi fuziunea membranelor fără pierderea controlului permeabilităţii. Acestea sunt procese absolut necesare creşterii şi diviziunii celulare, ca şi a altor activităţi celulare.

2.2. Glicocalixul (glicolema)

Glicocalixul, denumit şi glicolemă sau *cell-coat* („îmbrăcămintea celulei") sau *fuzzy-coat* (suprafaţa pufoasă sau scămoasă) este alcătuit din grupările glucidice ale glicoproteinelor şi glicolipidelor intrinseci ale plasmalemei, dar şi din glicoproteine extrinseci şi proteoglicani secretaţi de celule şi adsorbiţi apoi la suprafaţa celulei.

Structura şi funcţia învelişului de suprafaţă a celulelor animale au început a fi investigate abia în anul 1963, când *BENNETT* a atras atenţia asupra a ceea ce el a denumit *glicocalix* (înveliş dulce sau glucidic), care acoperă faţa externă a membranei „unit" sau a plasmalemei. Amploarea glicocalixului este variabilă : a) la celulele în cultură se simplifică ; b) *membranele celulelor* în contact sunt separate de către un spaţiu de 20-30 nm, în care se află glicolema celulelor vecine ; c) la celulele neangajate în interacţiune cu celulele vecine, libere (celulele sanguine) sau de suprafaţă (de ex. polul apical al celulelor mucoasei intestinale), grosimea glicocalixului poate atinge 50 nm. În acest caz, glicocalixul are două componente : una *internă*, mai puţin densă, groasă de 20 nm ; alta *externă*, mai densă, în grosime de 30 nm (fig. 2.10). Delimitarea reală a glicolemei în raport cu matricea extracelulară este destul de convenţională. La limita dintre cele două componente se află frecvente molecule de *fucoză*. Calciul formează punţi de legătură între două molecule de fucoză şi această zonă reprezintă locul de stocare a calciului la suprafaţa celulei. Din cele circa 100 monozaharide naturale, în glicoproteinele şi glicolipidele de la nivelul membranelor şi glicocalixului

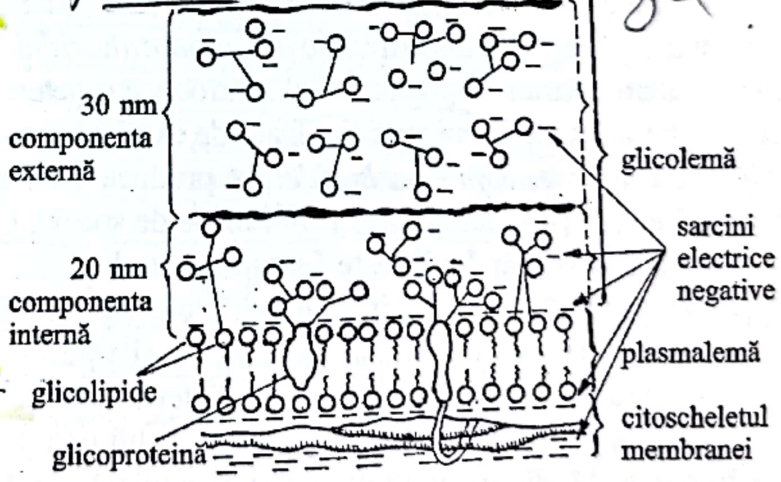


Fig. 2.10. ***Schema organizării glicocalixului***

se găsesc numai 9, cele mai importante fiind : galactoza, manoza, fucoza, galactozamina, glucozamina, glucoza şi acidul sialic (fig. 2.11). Prin metode citochimice s-a putut identifica topografia preferenţială la nivelul glicolemei, a principalelor molecule glucidice. Coloraţiile PAS (*PAS* = Periodic Acid Schiff), albastru Alcian, roşu de ruteniu, dovedesc prezenţa ozelor la acest nivel.

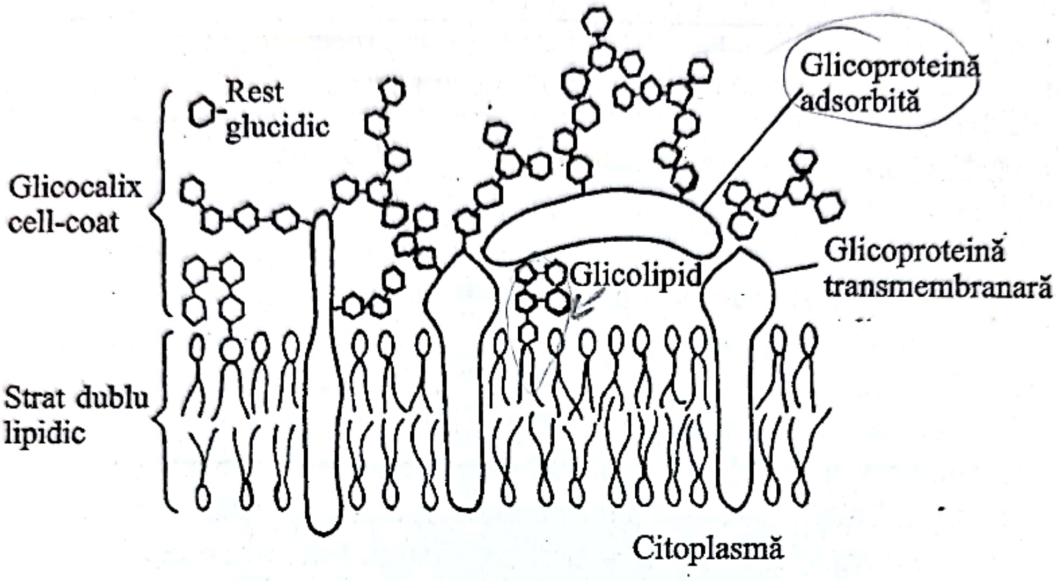


Fig. 2.11. ***Structura glicocalixului şi dispunerea sa în raport cu plasmalema***

Cu toate că interfaţa glucidică dintre celulă şi mediul său prezintă o structură şi o independenţă variabilă, o proprietate a sa rămâne esenţială, glicolema exprimă individualitatea celulară („*cartea de identitate a celulei*") prin intermediul a numeroase variante moleculare determinate de *monozaharidele componente*. În moleculele membranare, partea oligozaharidică, introduce o heterogenitate periferică, în contrast cu constanta lanţului polipeptidic. Dacă de ex. *3 aminoacizi* distincţi pot da naştere la *6 tripeptide diferite, 3 monozaharide* pot produce *1056 trizaharide diferite*. Identitatea celulară este exprimată nu numai în funcţie de specie, ci şi de tipul celular.

Glicolema îndeplineşte funcţii esenţiale :

a) asigură identitatea, individualitatea celulei, deoarece glicoproteinele sunt caracteristice nu numai speciei, ci şi tipului de celulă. De pildă, grupele sanguine la animale şi om sunt determinate de grupările glucidice terminale aflate pe glicoproteine şi glicolipide din membrana celulară ;

b) participă alături de matricea extracelulară la adezivitatea intercelulară ;

c) conţine grupările glucidice ale proteinelor-receptori de la nivelul membranei, ca şi ale unor proteine implicate în fenomenele de transport ;

d) are rolul de depozit pentru cationii de Ca^{2+} datorită sarcinilor electrice negative ale glicolemei. La nevoie, aceştia, aflaţi în rezervă ar putea fi mobilizaţi în celulă. Un exemplu de rol al acestei structuri în transmiterea informaţiei, îl constituie explicarea modului în care hematiile sunt blocate sau eliminate,

Scanned with OKEN Scanner

după circa 120 zile de viaţă, în ficat şi splină. Eliminarea este efectuată de receptori ai celulelor hepatice şi splenice, care recunosc glicoproteinele şi glicolipidele *„uzate"* ale suprafeţei hematiei. Lanţurile oligozaharidice în acest caz au pierdut acidul sialic şi deci *„uzura"* înseamnă *desializare*. Prin pierderea acidului sialic rămâne descoperită la capătul lanţului oligozaharidic *galactoza*, care, în mod normal ocupă locul penultim în lanţ. Galactoza este recunoscută de receptori, producându-se astfel o imobilizare a hematiei, cu fagocitarea şi liza ei în lizozomii macrofagelor specializate ale ficatului, *celulele Kupffer*.

2.3. Citoscheletul membranei celulare

Citoscheletul membranic este o reţea de proteine extrinseci de pe frontul intern, plasmatic (P) al membranei, cu grosimea de 5-9 nm, care conferă flexibilitate şi rezistenţă (fig. 2.10). La microscopul electronic, această componentă a membranei este o reţea anastomotică de microfilamente orientate neregulat şi prevăzută cu proteine globulare, la nivelul nodurilor reţelei. Citoscheletul membranei este ancorat de plasmalemă prin intermediul capătului intern al proteinelor integrale, iar prin faţa P, se pune în legătură cu citoscheletul matricei citoplasmatice. Datele asupra citoscheletului membranei se referă îndeosebi la membranele hematiilor. Cercetările recente au dovedit însă valabilitatea lor şi pentru numeroase alte tipuri de celule animale.

În hematie, citoscheletul membranei reprezintă circa 60% din masa proteinelor întregii membrane. Principalele tipuri de proteine citoscheletice sunt: *spectrina, anchirina, actina* şi *proteina benzii 4,1* (o proteină care migrează în banda 4,1 pe gelul de poliacrilamidă) (fig. 2. 12). Pe lângă acestea se mai află proteine neidentificate, de mase moleculare diferite.

Spectrina (tectina) este proteina scheletală ce predomină (60-75% din masa citoscheletului membranei). Ea este compusă din doi dimeri (240000 dal şi 220000 dal) (*1 dalton* = unitatea de măsură aproximativ egală cu masa atomului de hidrogen). Dimerii de spectrină au formă de bastonaş cu lungimea de 100 nm şi o grosime de 5 nm. Moleculele individuale sunt foarte flexibile, iar dimerii au capacitatea de a se lega cap la cap pentru a forma *tetrameri, hexameri, octameri* etc.

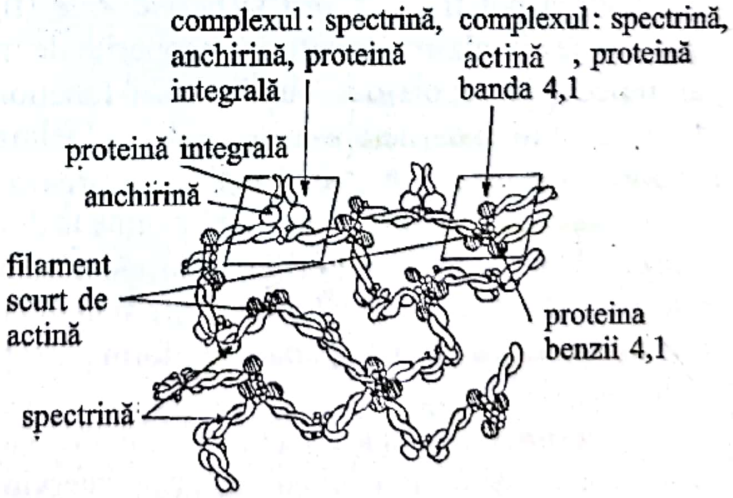


Fig. 2.12. ***Schema citoscheletului membranei hematiei***

Anchirina (nectina, sindeina) este o proteină de

formă rotundă sau piramidală cu dimensiunea de 8/9,5 nm, este un polipeptid de 200000 dal şi reprezintă 7,2 % din totalul proteinelor membranei hematiei.

Actina se află sub formă de mici fragmente de *actină fibrilară (AF)*, alcătuită din câteva subunităţi de *actină globulară (AG)*. Lungimea fragmentelor de AF variază în raport cu numărul de molecule de spectrină pe care le leagă prin capetele lor.

Proteina benzii 4,1 este o proteină globulară cu diametrul de 6 nm. În fig. 2.12 se evidenţiază că ochiurile reţelei citoscheletului sunt alcătuite din dimeri de spectrină. Nodurile reţelei sunt formate din două complexe moleculare :
- complexul *spectrină, anchirină* şi *proteină integrală,* ce reprezintă dispozitivul de legătură între reţeaua citoscheletală şi plasmalemă ;
- complexul *spectrină, actină* şi *proteina benzii 4,1*, ce structurează nodurile propriu-zise ale reţelei şi care reprezintă sistemul de legătură cu citoscheletul matricei citoplasmatice. Proteinele citoscheletului din membrane, împreună cu proteinele şi lipidele de pe frontul P al plasmalemei prezintă numeroşi radicali hidrofili. Radicalii electronegativi sunt extrem de abundenţi şi ei conferă o încărcătură electrică mai puternic negativă feţei P în raport cu faţa externă (E) a membranei celulare.

Legăturile dintre diferitele tipuri de proteine citoscheletale sunt modulate prin procese de fosforilare şi prin intermediul unei proteine reglatoare calciu-dependentă, denumită *gelsolină*.

Citoscheletul membranei reprezintă acea parte a membranei celulare care conferă elasticitate prin dispoziţia în reţea a proteinelor şi rezistenţă datorită complexelor proteice de la nivelul nodurilor citoscheletale. Citoscheletul membranei are rolul unui *ecran de recepţie-transmisie a mesagerilor intracelulari*. Calciul şi nucleotizii ciclici (AMP_c) sunt *mesageri de ordinul al II-lea* pe care acest ecran îi emite pentru diferite organite *„ţintă"* din celulă.

2.4. Expansiuni ale suprafeţei celulare

Acestea pot fi *tranzitorii* şi *permanente* (fig. 2.13). Cele *tranzitorii* sunt expansiuni ale citoplasmei periferice acoperite de membrana celulară, care apar şi dispar repede, în raport de anumite stări funcţionale ale celulei. Diferenţierile tranzitorii sunt înfundările plasmalemei în endocitoză, emiterea de *pseudopode* sau *văluri ondulante* prin care se realizează mişcarea celulară.

Expansiunile permanente sunt întâlnite la diferite tipuri celulare şi reprezintă specializări ale citoplasmei periferice şi ale plasmalemei, care asigură celulei o funcţie specială (ex. absorbţia la *enterocite* şi *nefrocite*). Ele sunt reprezentate prin : *microvilozităţi* izolate sau răspândite uniform pe suprafaţa polului apical al celulei, *cilii*, *stereocilii* şi *flagelii*.

Microvilozităţile sunt expansiuni cilindrice ale citoplasmei periferice, limitată de membrana celulară a polului apical şi care intervin în procesele de absorbţie prin :
- mărirea suprafeţei de contact a celulei cu substanţele care trebuie să pătrundă în ea ;
- concentrarea unui număr mare de zone receptoare. Microvilozităţile pot fi izolate sau grupate. Cele izolate sunt distanţate unele de altele, inegale, au forme şi

Scanned with OKEN Scanner

dimensiuni variabile (ex. microvilozităţile epiteliului gastric). Microvilozităţile grupate ocupă toată suprafaţa plasmalemei polului apical al celulei, pot fi identice ca formă, lungime şi grosime la *enterocite* sau pot prezenta înălţimi şi grosimi inegale la *nefrocite*.

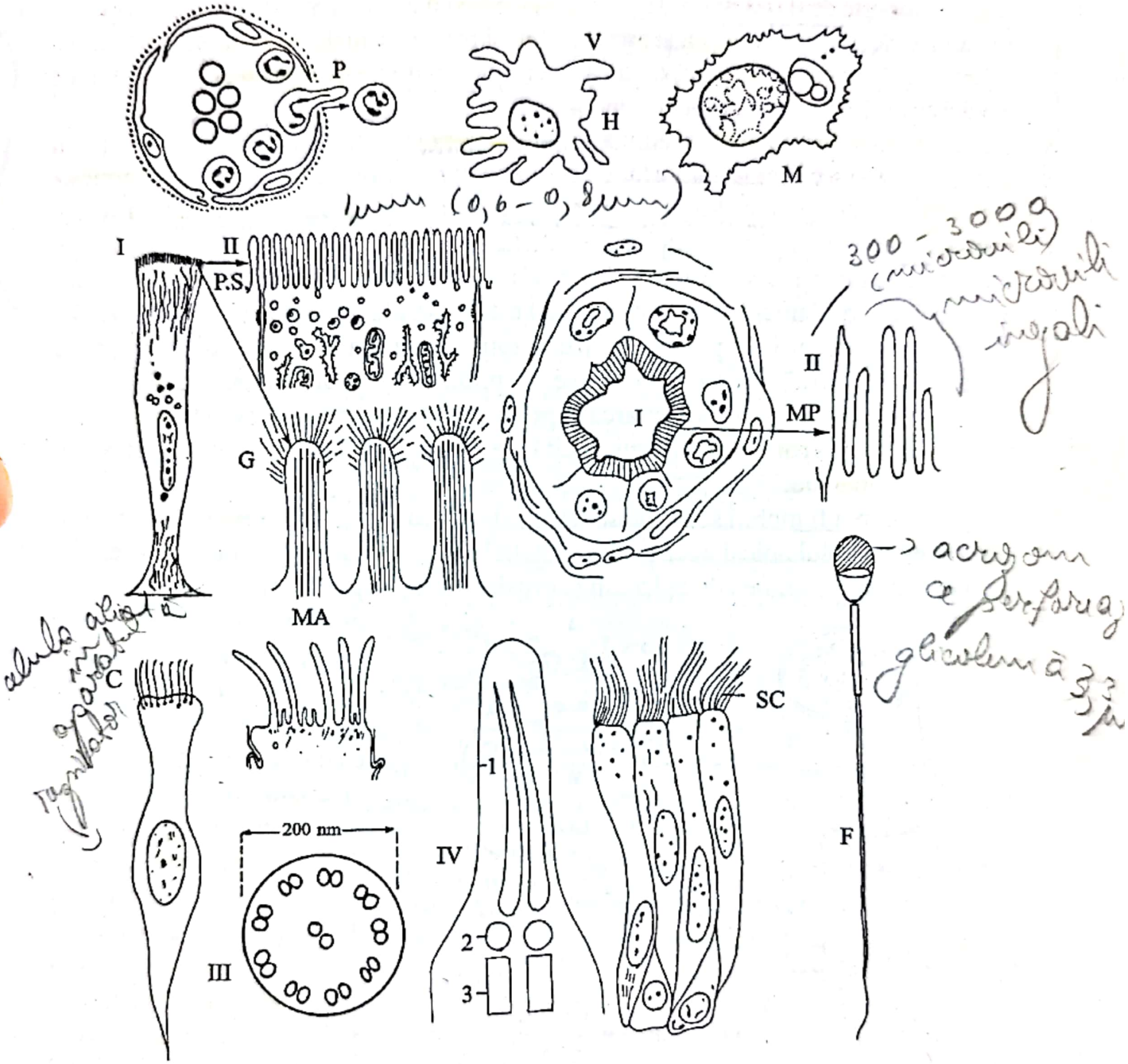


Fig. 2.13. ***Expansiuni ale suprafeţei celulare*** : P.-pseudopod (neutrofil în procesul de diapedeză) ; V.-vălurile ; H.- histiocit ; M.-macrofag ; PS.-platoul striat la enterocit (I-MO ; II-ME) ; G.-glicocalix ; MA.-microfilamente de actină ; MP.-marginea în perie la nefrocit (I-MO ; II-ME) ; C-cili ; III-axonema, complexul filamentos axial, 2+9 dublete periferice ; IV-structura cililor (1-tija ; 2-corpuscul bazal ; 3-rădăcina) ; SC.-stereocilii din celulele epiteliale din epididim ; F.-flagelul spermatozoidului.

Scanned with OKEN Scanner

La microscopul optic, microvilozităţile structurează *platoul striat* la enterocite şi *marginea în perie* la nefrocite.

Platoul striat este format din numeroase microvilozităţi (300-3000/enterocit), se caracterizează printr-o uniformitate de lungime şi diametru a microvilozităţilor şi prin bogăţia în glicocalix (50 nm), ce îmbracă plasmalemele acestor expansiuni citoplasmatice. Lungimea microvililor este de 0,6-0,8 μm, iar diametrul de 200 nm. Plasmalema care acoperă aceste microvilozităţi conţine ATP-ază şi este sediul unui număr mare de transportori. Citoplasma microvilozităţilor cuprinde o zonă centrală care conţine *10-40 microfilamente de actină*, dispuse paralel cu axul lung al microvilozităţilor.

Microfilamentele de actină au aceeaşi polaritate şi se termină la capătul microvilului într-o regiune amorfă, cu o compoziţie insuficient precizată, ce stabileşte legătura cu plasmalema. La polul bazal, microfilamentele de actină din microvil se termină într-o reţea perpendiculară de filamente de actină numită *butonul terminal*. Această reţea conţine şi miozină şi are funcţia de a menţine în poziţie microvilul. Mănunchiul de filamente din microvil mai este legat din loc în loc şi prin *fimbrină* – ce stabileşte legături cu plasmalema din zona laterală a microvilului (legături ce realizează „o scară" cu treptele dispuse în spirală, în lungul microvilului).

Marginea în perie se remarcă la polul apical al nefrocitelor din tubii contorţi proximali ai nefronului. Microvilozităţile în acest caz sunt mai lungi şi au dimensiuni inegale.

Cilii pot fi mobili sau vibratili şi rigizi (stereocilii). *Cilii vibratili* (kinetocilii) se remarcă la polul apical al celulelor epiteliale din mucoasa aparatului respirator şi din oviduct, au lungimea de 5-15 μm şi grosimea de 0,2 μm, şi sunt formaţi din trei porţiuni: partea liberă *(tija)*, *corpusculul bazal* şi *rădăcina*. Tija conţine o matrice densă la fluxul de electroni, situată la periferie şi *axonema* (complexul filamentos axial), format din 10 perechi de tubi longitudinali. Aceştia sunt dispuşi în două grupe, o pereche de tubi centrali şi 9 perechi (dublete) periferice, dispuse concentric în jurul perechii centrale (*2+9 dublete periferice*). Fiecare dublet periferic este format dintr-un microtubul complet, numit *subfibra „A"*

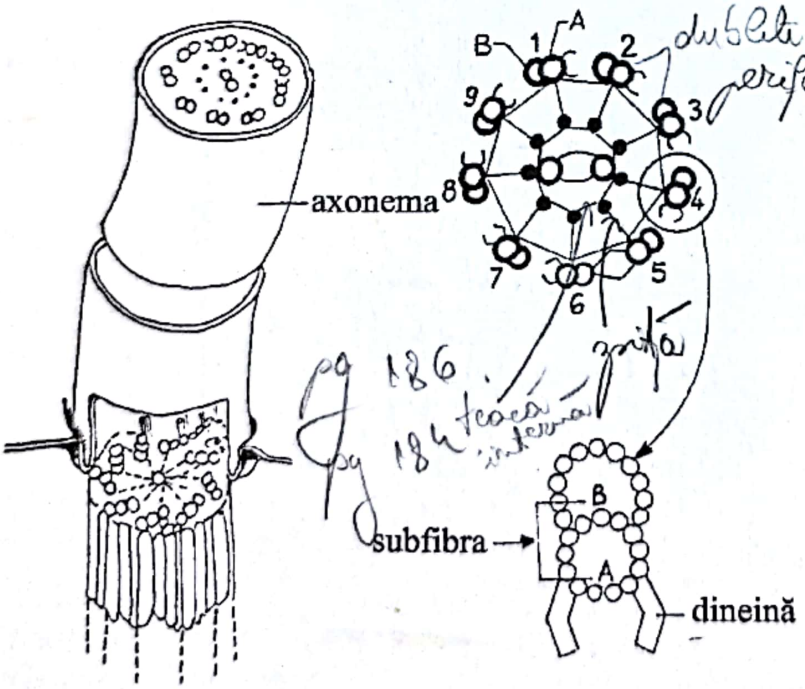


Fig. 2.14. ***Schema ultrastructurală de organizare a cilului***

Scanned with OKEN Scanner

(13 *protofilamente*), de care este ataşat pe o parte un microtubul incomplet – *subfibra "B"* (11 *protofilamente*) (fig. 2.14). Subfibra „A" prezintă două braţe în formă de cleşte, în compoziţia cărora intră o proteină numită *dineină*, care apare în lungul microtubulului la intervale regulate de 24 nm. Dineina este o protein-enzimă bogată în ATP-ază. La intervale mai mari, există din loc în loc şi legături elastice între dubletele vecine, formate dintr-o altă proteină, numită *nexină*. De la subfibra „A" pleacă spre centrul axonemei, câte un braţ de legătură *(spiţă)* ce se termină într-o porţiune globulară, în vecinătatea unei *teci interne* ce înconjoară cei doi microtubuli centrali. Aceste legături se repetă periodic în lungul axonemei.

Corpusculul bazal are structură identică cu a centriolului, având aspect cilindric cu lungimea de 0,3 μm şi diametrul de 0,1 μm. La periferia cilindrului se află 9 dublete sau triplete cu o structură microtubulară, în schimb, în centru nu se află microtubuli *(0+9 dublete sau triplete periferice)*. Corpusculul bazal coordonează mişcarea cililor în timp ce *centriolii* coordonează motilitatea celulară.

Rădăcina ciliară este formată din dubletele sau tripletele corpusculului bazal care ajung în citoplasma periferică apicală a celulei ciliate. Rădăcina ancorează cilul în citoplasmă, participă la conducerea stimulilor recepţionaţi de partea liberă şi are proprietăţi contractile.

Stereocilii (cilii rigizi) de la polul apical al celulelor epiteliale ale epididimului au o structură asemănătoare cu a cililor vibratili, exceptând lipsa perechii de microtubuli centrali *(0+9 dublete periferice)*.

Flagelii structurează cozile spermatozoizilor şi axonema este de tipul *2+9 dublete periferice*. În jurul axonemei, se dispun mitocondriile cu aspect spiralat, care asigură ATP-ul necesar mişcării.

2.5. Joncţiunile intercelulare

Acestea sunt structuri stabile, situate între celulele vecine în care plasmalemele interacţionează specific. Se disting trei categorii de joncţiuni celulare speciale, după funcţiile lor: *joncţiuni de adezivitate, joncţiuni impermeabile* şi *joncţiuni de comunicare*.

Grupul de complexe joncţionale speciale (sinapsele şi discurile intercalare) fac obiectul studiului ţesuturilor în cadrul capitolului de *„Histologie generală"*.

Considerăm că este necesar să se precizeze conţinutul a doi termeni împrumutaţi din limba latină: *zonula* (în formă de „bandă" sau „panglică"); *macula* (în formă de „pată", „spot" sau „nit").

2.5.1. Joncţiuni de adezivitate (desmozomii)

Se întâlnesc trei tipuri de desmozomi: în formă de pată, în formă de bandă şi hemidesmozomi.

Desmozomii în pată (macula adherens) (fig. 2.15) sunt prezenţi de regulă între celulele diferitelor tipuri de ţesuturi epiteliale de acoperire şi sunt alcătuiţi din următoarele elemente componente:

Scanned with OKEN Scanner

- plasmalemele adiacente aşezate paralel la o distanţă de 25-30 nm ;
- un material intercelular dens la fluxul de electroni, proteic, de aspect filamentos, bisectat de o densificare centrală, bogată în glucide şi calciu ;
- densificări în formă de disc pe frontul citoplasmatic ;
- dispozitive de legătură sau *„linkeri"*, reprezentaţi de microfilamente ce se detaşează din materialul dens intercelular, străbat plasmalemele, traversează apoi discurile interne şi se ancorează de microfilamentele citoscheletului ;
- elementele citoscheletale reprezentate, fie de microfilamentele de actină, fie de filamente de cheratină (tonofilamente).

Desmozomii în bandă (zonula adherens) sunt prezenţi la polul apical al celulelor epiteliale şi la nivelul segmentelor transversale ale discurilor intercalare cardiace (strii scalariforme Eberth). Ultrastructura lor este asemănătoare cu cea a desmozomilor în pată, cu următoarele deosebiri :

- densificările de pe faţa internă a plasmalemei nu au formă de disc, ci se extind în mod nedefinit sub formă de bandă ;
- spaţiul intercelular este de 15-25 nm şi mai sărac în material dens.

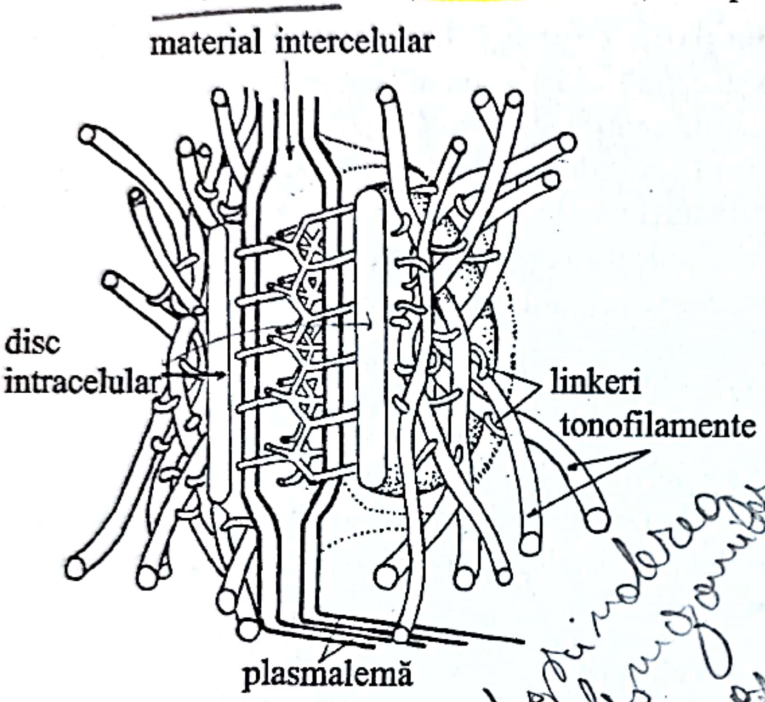


Fig. 2.15. ***Schema desmozomilor în pată***

Hemidesmozomii (semidesmozomii) sunt variante ale desmozomilor în pată ce realizează joncţiuni ale celulelor epiteliale cu membranele bazale. Prezintă numai o jumătate din structura desmozomului în pată, în sensul că, pe frontul citoplasmatic al plasmalemei bazale există un disc care este unit prin filamente cu membrana bazală.

2.5.2. Joncţiuni impermeabile (joncţiuni strânse)

Aceste joncţiuni au o dispoziţie în bandă ; se mai numesc *zonule occludens*. În organizarea joncţiunilor strânse, membranele adiacente se apropie complet una de alta pentru a edifica structuri pentalaminate, obliterând astfel spaţiul intercelular şi împiedicând scurgerea moleculelor printre membranele angajate în organizarea

dispozitivului joncţional. La edificarea acestor dispozitive (fig. 2.16) participă şi proteine integrale care traversează membranele adiacente, se dispun în şiruri gemene pentru a organiza dispozitive de sudură ce se conectează *„în fermoar"* (la nivelul frontului extracelular). Pe frontul plasmatic, proteinele integrale sunt „ancorate" prin intermediul unor microfilamente de citoscheletul matricei citoplasmei. Proteinele integrale au un traiect neregulat şi prezintă segmente de legătură între şiruri, fapt ce conferă aspectul general „de reţea" ansamblului dispozitivului de sudură. Prin realizarea acestor joncţiuni se împiedică scurgerea fluidelor printre celule, toate substanţele, inclusiv cele micromoleculare sunt obligate să treacă prin plasmalemă.

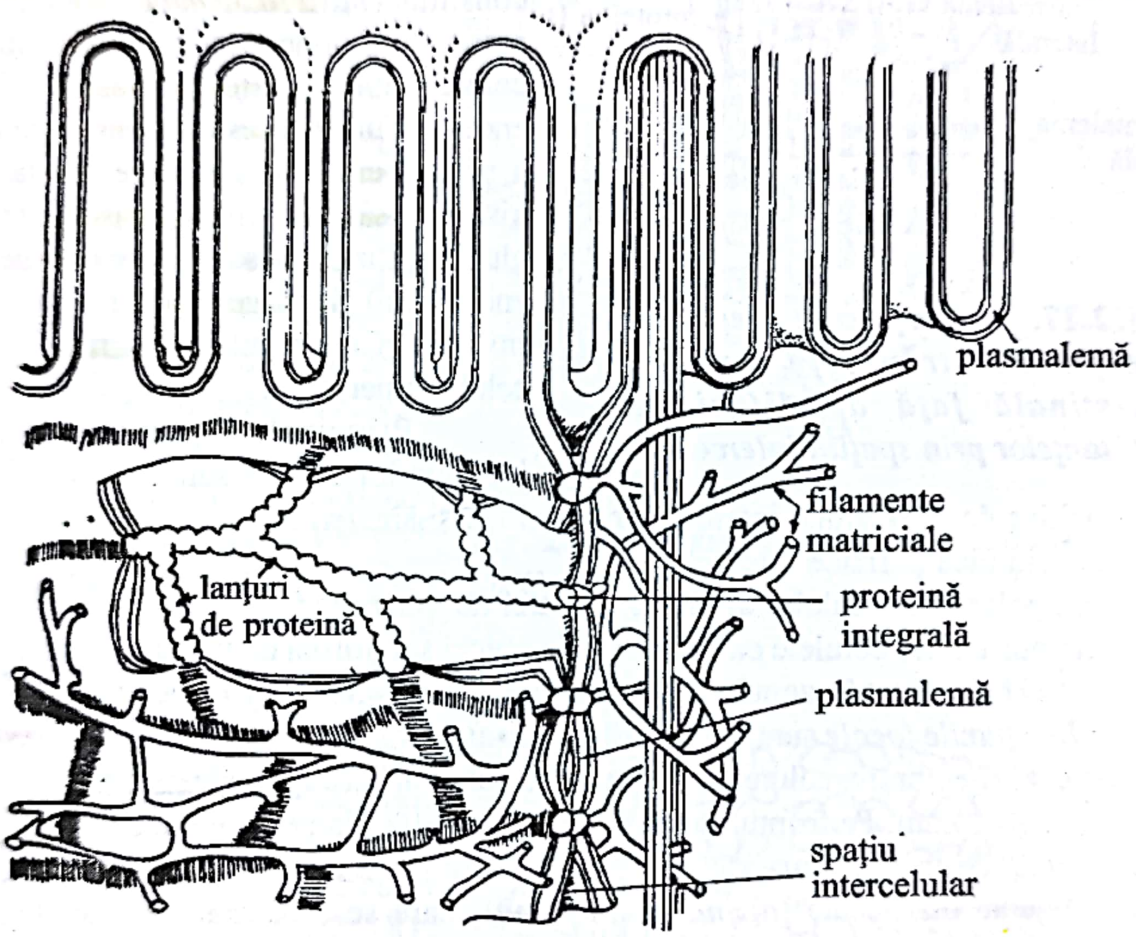


Fig. 2.16. ***Schema joncţiunii strânse***

De exemplu, glucoza este pompată activ din lumenul intestinal în celulă, prin suprafaţa apicală, iar din celulă trece în sânge prin difuziune facilitată, mediată de transportori situaţi în zonele bazolaterale ale plasmalemei. Joncţiunile strânse nu numai că împiedică retrodifuziunea glucozei din spaţiul intercelular în lumenul intestinului (fig. 2.17), dar se opune şi difuziunii celor două categorii de transportori ai glucozei prin stratul dublu lipidic al plasmalemei. În acest mod, joncţiunile strânse menţin domeniile membranelor (*apical* şi *bazolateral*). Diferenţele între joncţiunile strânse ale diferitelor tipuri de ţesuturi epiteliale constau în aspectul general al şirurilor

dispozitivelor de sudură. Astfel, la nivelul joncţiunilor strânse de la polul apical al celulelor tubului contort proximal din rinichi, sunt încorporate numai unul sau două şiruri de proteine integrale care conferă o rezistenţă relativ redusă joncţiunilor respective. În schimb, la nivelul celulelor epiteliale din vezica urinară, joncţiunile strânse conţin şase sau mai multe şiruri de proteine integrale, pentru a realiza o sudură foarte puternică şi foarte greu de traversat de moleculele interstiţiale.

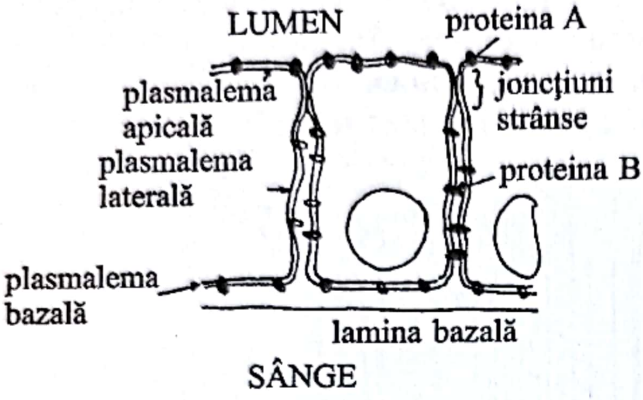


Fig. 2.17. ***Bariera pe care o realizează joncţiunile strânse în mucoasa intestinală faţă de difuziunea substanţelor prin spaţiul intercelular***

Un alt exemplu concludent despre rolul joncţiunilor strânse îl constituie *bariera hematoencefalică*, realizată de joncţiunile strânse dintre celulele endoteliale ale vaselor din encefal. Funcţia acestei bariere este de a proteja encefalul de unele substanţe toxice din sânge, permiţând însă trecerea glucozei (principala sursă de energie a encefalului) din sânge în creier şi în sens invers a CO_2 rezultat din respiraţia celulelor nervoase.

Principalele proprietăţi ale joncţiunilor strânse sunt :

- dispozitive de adezivitate intercelulară flexibile şi sigure ;
- bariere chimice şi fizice intercelulare ;
- conferă polaritate celulelor angajate în astfel de joncţiuni ;
- apar timpuriu între celulele embrionare, de obicei sub formă de macule, ca apoi să se transforme treptat în zonule pe seama diferenţierii celulelor respective.

Joncţiunile focale sunt o variantă a joncţiunilor strânse, întâlnite la fibrocite. În acest caz, membrana celulei se apropie de substratul său de adezivitate până la distanţa de 10-15 nm. Pe frontul extracelular (E) se află filamentele glicoproteice de *fibronectină*. Pe frontul intracelular (P) al joncţiunii se aglomerează fascicule de microfilamente matriceale (*actină* şi *vinculină*), care se asociază cu plasmalema prin intermediul unor densificări submembranale. Filamentele de fibronectină (extracelulare) sunt ancorate transmembranar de microfilamentele de actină şi vinculină (intracelulare) prin intermediul *fibronexurilor* (dispozitive de legătură de 8-20 nm).

2.5.3. Joncţiunile de comunicare : joncţiuni permeabile şi sinapse

Joncţiunile de comunicare mediază trecerea unor molecule mici între cele două celule care interacţionează şi sunt de două tipuri : joncţiuni permeabile şi sinapse.

Joncţiunile permeabile permit trecerea directă a moleculelor mici de la o celulă la alta. Astfel de joncţiuni există şi în cazul sinapselor electrice, unde celulele

Scanned with OKEN Scanner

comunică indirect prin *neurotransmiţători* (secretaţi de celula *presinaptică*) ce difuzează prin *spaţiul sinaptic* şi se leagă de receptorii din membrana celulei *postsinaptice*.

Joncţiunile permeabile (GAP) sunt realizate prin structuri proteice, numite *conexoni*, ce străbat plasmalema şi proemină de o parte şi de alta a stratului dublu lipidic. Aceste joncţiuni sunt foarte răspândite la diferite tipuri de ţesuturi şi ele reprezintă principala cale de comunicaţie intercelulară. Caracteristica lor esenţială este că permit schimburi rapide de molecule între celulele angajate în joncţiuni, prin aceasta realizându-se o cooperare metabolică între celule. Spaţiul intercelular, în acest caz, este foarte îngust, de numai 2-4 nm. La formarea joncţiunii permeabile, conexonii din cele două celule participante se aşează cap la cap, realizând astfel canale de comunicare între citoplasmele celor două celule. Interiorul canalelor este complet izolat de spaţiul intercelular. Conexonii sunt dispuşi în registru pe suprafaţa maculei joncţionale (fig. 2.18). Conexonul are formă de prismă hexagonală, cu diametrul de 7-8 nm şi este alcătuit din 6 *subunităţi proteice (oligomeri)* în formă de bastonaşe, cu diametrul de 2,5 nm şi lungimea de 7,5 nm. Subunităţile sunt dispuse în inel pentru a delimita un canal hidrofil cu diametrul reglabil 0,4-2 nm (fig. 2.19).

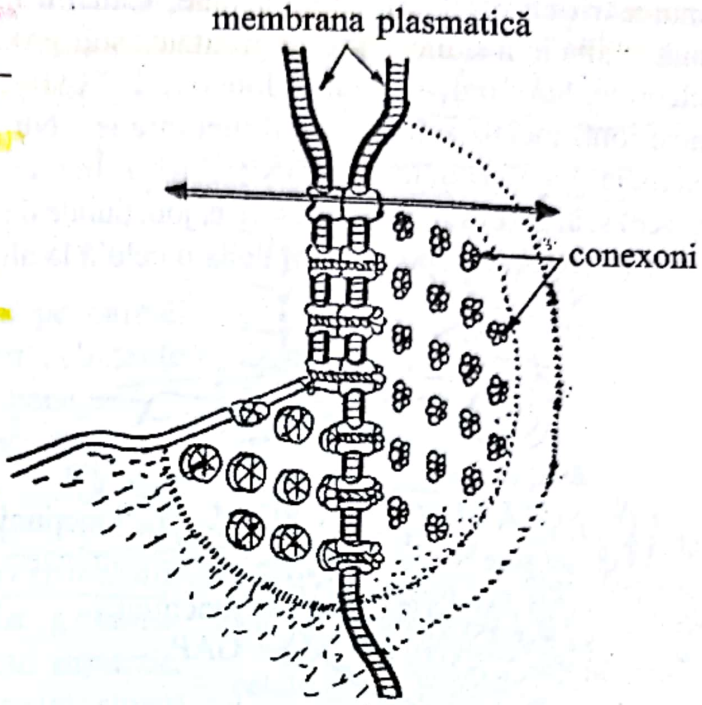


Fig. 2.18. *Schema în spaţiu a joncţiunii de tip GAP*

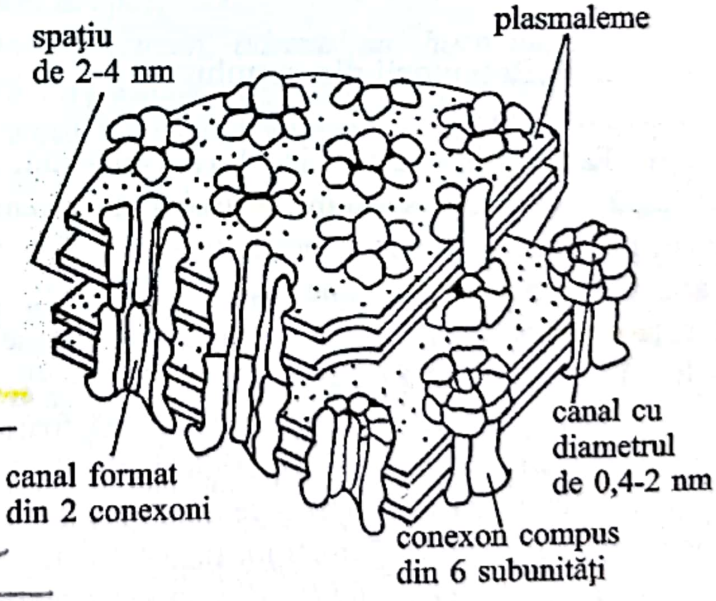


Fig. 2.19. *Diagrama joncţiunilor de tip GAP*

Scanned with OKEN Scanner

Ionul de Ca^{2+} intracelular joacă un rol cheie de reglator al deschiderii canalului hidrofil al conexiunilor, deci de control al comunicaţiilor intercelulare.

Creşterea concentraţiei Ca^{2+} în citoplasma unei celule determină închiderea comunicării cu celelalte celule vecine. Canalul hidrofil permite să treacă dintr-o celulă în alta ioni şi molecule cu greutatea sub 1000-1500 dal: glucide, aminoacizi, nucleotide, hormoni, vitamine. Joncţiunile GAP sunt de 10000 ori mai permeabile pentru ionii metalici decât restul membranei. Nu pot să treacă macromoleculele: proteinele şi acizii nucleici (ADN şi ARN). În unele celule (leiocite, celule musculare cardiace) şi în cazul sinapselor electrice, joncţiunile de acest tip permit trecerea curentului electric (a undei de depolarizare) de la o celulă la alta.

2.5.4. *Complexe joncţionale*

Celulele epiteliale secretorii sau celulele din epiteliile intestinal şi renal realizează între ele o serie de elemente joncţionale, denumite *complexe joncţionale*. Acestea sunt elemente joncţionale strânse spre frontul luminal, joncţiuni de tip GAP în poziţie intermediară şi desmozomi spre extremitatea bazală (fig. 2.20).

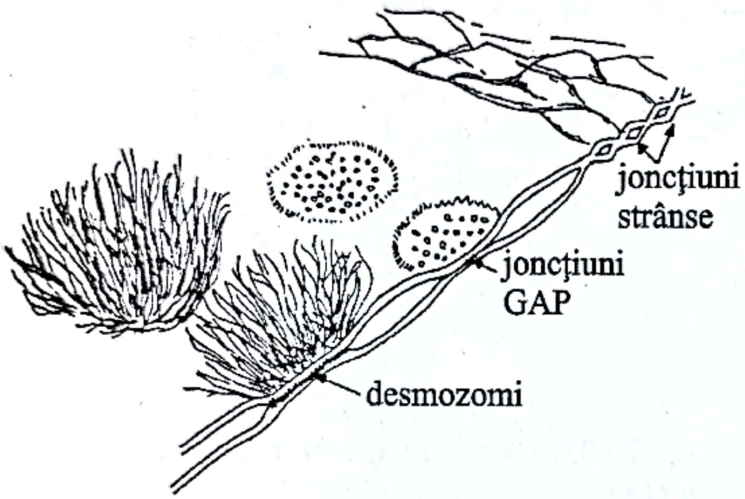


Fig. 2.20. ***Schema complexului joncţional***

2.6. Receptorii din membrane

Receptorii sunt proteine din plasmalemă, din citoplasmă sau din nucleu care se leagă specific cu substanţe extracelulare, numite *liganzi*. Prin această cuplare induc răspunsuri celulare caracteristice. Noţiunea de *ligand* defineşte toate substanţele care, vehiculate pe cale umorală sau nervoasă, se leagă de receptori şi modulează funcţia celulară. Liganzii acţionează în concentraţie foarte mică ($\sim 10^{-8}$M), iar receptorii îi leagă cu o constantă de afinitate mare, K $\sim 10^8$ litri/mol.

În organismul animal se realizează foarte multe interacţiuni între celulele specializate care secretă liganzi şi celulele „ţintă" în care se induc modificări metabolice.

Se cunosc trei categorii de molecule-semnal de natură endogenă (produse de organism): mediatori chimici locali, hormoni şi neurotransmiţători (fig. 2.21).

Mediatorii chimici locali sunt secretaţi de unele celule şi acţionează numai asupra celulelor din imediata vecinătate, deoarece sunt rapid captaţi sau distruşi.

Hormonii sunt secretaţi de celulele glandelor endocrine şi pe cale sanguină ajung la celulele ţintă aflate la distanţe mari, în diferite organe.

Scanned with OKEN Scanner

Neurotransmiţătorii sunt produşi de neuroni, eliberaţi la nivelul sinapselor chimice şi acţionează numai asupra celulelor ţintă adiacente.

În transmiterea de informaţii, hormonii şi neurotransmiţătorii sunt consideraţi *mesageri chimici de ordinul I.*

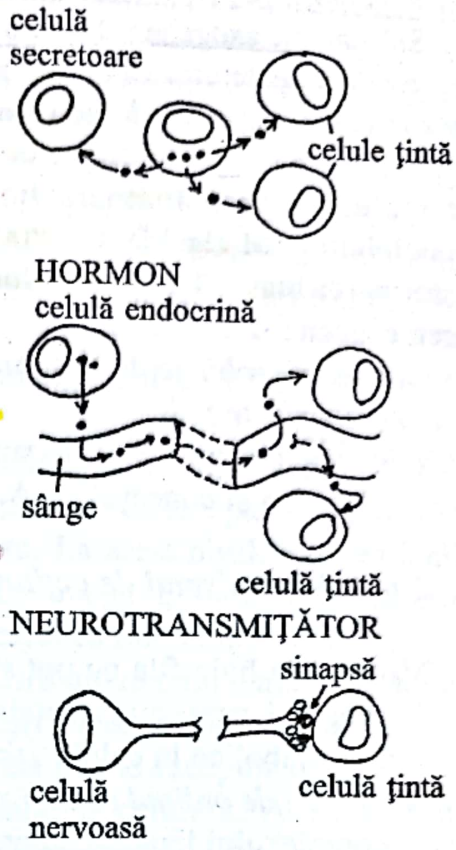


Fig. 2.21. ***Molecula-semnal endogenă ce acţionează pe receptori***

2.6.1. Tipuri de receptori

După originea ligandului pe care îl leagă, receptorii pot fi: pentru substanţe endogene şi pentru substanţe exogene.

Receptorii pentru substanţe endogene sunt:

- *pentru neurotransmiţători: acetilcolină, noradrenalină, dopamină, serotonină, adrenalină, histamină, acid gamma-aminobutiric, acid glutamic, acid aspartic, peptide mici (encefalina).* Aceştia sunt situaţi în membrana postsinaptică a celulelor nervoase, musculare sau alte celule efectoare.
- *pentru hormoni* sunt localizaţi diferit în celulă, după cum hormonul este *hidrofil* (hidrosolubil) sau *hidrofob* (insolubil în apă).

Hormonii hidrofili *(insulina, glucagon, adrenalina, hormonii hipofizari, parathormonul)* se leagă de receptorii din plasmalemă şi aceşti receptori transmit celulei informaţia necesară spre a-şi modifica metabolismul. Dintre aceştia mai bine caracterizaţi sunt receptorii pentru *insulină* care au fost izolaţi din hepatocite şi din adipocite. Ei au masa moleculară de 300000 dal şi pentru fiecare celulă există circa 10000 receptori pentru insulină. Dacă hormonii sunt hidrofobi (hormonii steroizi şi tiroidieni), ei pătrund uşor prin plasmalema celulei ţintă şi se leagă de receptorii intracelulari.

- *pentru imunogeni:*

a) *receptori pentru antigene endogene* sunt numeroşi la suprafaţa *limfocitelor T* şi sunt codificaţi genetic pentru recunoaşterea structurilor moleculare proprii organismului respectiv (self); *receptori pentru anticorpi* sunt receptori F_c (F_c = *fracţiunea cristalizabilă a imunoglobulinei G* - Ig G) pentru imunoglobulina G localizaţi la suprafaţa celulelor din sistemul macrofagic monocitar şi receptori pentru imunoglobulina E de pe suprafaţa bazofilelor şi mastocitelor;

b) *receptori pentru complement* sunt receptorii C_3 care leagă cea de a treia componentă a complementului de la suprafaţa celulei. Ei sunt caracteristici celulelor din sistemul macrofagic-monocitar.

Scanned with OKEN Scanner

Receptorii pentru substanţe exogene

Substanţele exogene vehiculate pe cale umorală pot fi reprezentate de virusuri, toxine, medicamente etc. Deci, receptorii pentru acestea pot fi :

- *pentru virusuri*, capabili să recunoască ribovirusuri, adenovirusuri ;
- *pentru antigene non-self* (străine de organism) de la suprafaţa *limfocitelor B*, care sunt molecule asemănătoare imunoglobulinelor. Cea mai cunoscută este imunoglobulina M (Ig M) de 180000 dal. Aceşti receptori sunt responsabili de transformarea blastică a limfocitelor B în *plasmocite* ca urmare a impactului cu un antigen exogen ;
- *pentru toxine microbiene* de la suprafaţa celulelor imunocompetente ;
- *pentru medicamente* ;
- *pentru lectine* (*lectine* = substanţe extrase din planta Phaseolus vulgaris) : fitohemaglutinina şi concavalina A.

2.6.2. Mecanismul de acţiune al receptorilor

Moleculele hidrofile nu pot străbate plasmalema decât după ce se leagă de receptorii specifici care sunt proteine integrale în stratul bimolecular de lipide. Modificările metabolice în celula „ţintă", ca răspuns la influenţa diferiţilor liganzi cu rol de *mesageri de ordinul I* sunt : recunoaşterea şi ataşarea liganzilor de receptori şi efectele complexului ligand-receptor asupra celulelor.

Recunoaşterea şi ataşarea liganzilor de receptori

Legăturile dintre insulină şi receptorii săi sunt mai bine cunoscute şi se realizează prin legături hidrofobe şi legături de hidrogen. Ca urmare, legăturile sunt labile şi strict dependente de concentraţia hormonală din mediul extracelular.

Efectele complexului ligand-receptor asupra celulelor se manifestă prin : modificări structurale ale membranei celulare şi modificări funcţionale ale membranelor.

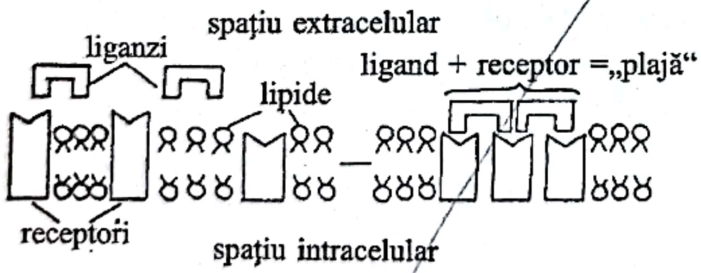


Fig. 2. 22. ***Agregarea în „plaje" a receptorilor din membrana celulară***

1. Modificări structurale ale membranei celulare. Înainte de interacţiunea ligand-receptor, receptorii sunt răspândiţi la întâmplare pe toată suprafaţa membranei celulare. După contactul ligand-receptor are loc *redistribuirea* receptorilor care se agregă la suprafaţa membranei în zone restrânse sau *„plaje"*, (fig. 2.22). Datorită fluidităţii stratului dublu lipidic, doi receptori învecinaţi legaţi de aceeaşi moleculă ligand sunt forţaţi să se deplaseze şi să se apropie. Mai multe molecule ligand pot agrega deci mai mulţi receptori învecinaţi, formând astfel „plajele" de receptori.

Scanned with OKEN Scanner

În limfocitele B, agregatele receptor-ligand au dimensiuni mari, structurând *o cupolă*, unde se declanşează un proces de endocitoză.

2. *Modificări funcţionale ale membranelor.* Ele sunt dependente de natura ligandului. Astfel se disting :

a) *modificări de permeabilitate a membranei* caracteristice pentru liganzii de tipul neurotransmiţătorilor. Astfel, acetilcolina se leagă de receptori la nivelul membranelor postsinaptice ale fibrelor musculare cardiace. Ca urmare se produce creşterea permeabilităţii membranei pentru ionii din mediul extracelular şi este generat impulsul nervos ;

b) *inducerea de endocitoză* se produce când ligandul este substanţă endogenă vehiculată pe cale umorală ;

c) *pătrunderea din mediul extracelular a unor ioni,* de exemplu, ionii de calciu pătrund în celulă ca urmare a cuplării neurotransmiţătorilor de receptorii din membranele postsinaptice ale joncţiunilor neuromusculare. La acest nivel, intrarea ionilor de calciu este urmată de cuplarea excitaţiei cu contracţia (glisarea filamentelor de actină printre cele de miozină), care produc scurtarea fibrei musculare ;

d) *activarea unor enzime din membrana celulară* apare numai atunci când liganzii sunt hormoni hidrofili, medicamente sau neurotransmiţători consideraţi mesageri de ordinul I. În aceste situaţii, interacţiunea ligand-receptor duce la activarea *adenilatciclazei*, enzimă localizată în membrana celulară. Această enzimă va cataliza pe faţa citoplasmatică a plasmalemei sinteza de *adenozin-3'5' monofosfat ciclic* (AMP-c) din ATP sau va determina direct fosforilarea proteinelor celulare.

Adenilatciclaza este activată de cuplul ligand-receptor prin intermediul unei proteine reglatoare, denumită *proteina G* (fig. 2.23).

Proteina G se prezintă sub două forme : GTP ce activează adenilatciclaza şi GDP care o inactivează.

Activarea adenilatciclazei catalizează sinteza de AMP-c din ATP şi ca urmare, creşte cantitatea de AMP-c în citosol. AMP-c este considerat *mesager de ordinul II* în citosol, deoarece determină efecte specifice induse de hormon (mesagerul de ordinul I) prin intermediul receptorilor. Semnalul hormonal este mult multiplicat prin AMP-c. Activarea adenilatciclazei în celulele stimulate de hormoni duce la creşterea de AMP-c în citosol. Fosforilarea mai multor molecule proteice prin *prote-*

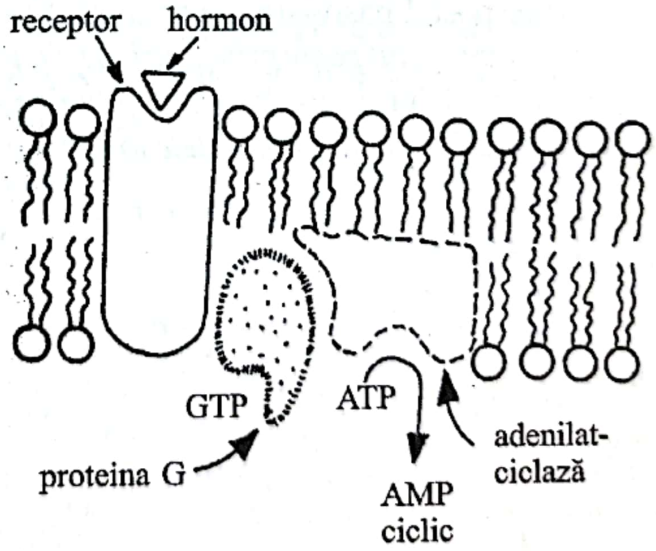


Fig. 2. 23. ***Activarea adenilatciclazei prin legarea hormonilor de receptori***

Scanned with OKEN Scanner

inkinaze activate prin intermediul AMP-c amplifică mai departe procesele metabolice specifice din celulă. Sinteza de AMP-c, poate fi blocată de unele *prostaglandine* care acţionează prin inhibarea adenilatciclazei.

2.7. Schimburile prin membrană

Bistratul lipidic funcţionează ca o barieră de difuziune pentru apă şi moleculele hidrofile. În schimb, moleculele liposolubile, inclusiv oxigenul şi bioxidul de carbon, trec uşor prin membrană. Schimbul de substanţe prin membrana celulară se face fie prin traversul diferitelor structuri ale ei, fie pe calea transportului în masă prin intermediul veziculelor organizate pe seama membranei celulare.

2.7.1. Transportul transmembranar

Transportul transmembranar se mai numeşte microtransport şi facilitează schimburile de molecule mici şi ioni între celulă şi mediul extracelular. După mecanismele care intervin în mişcarea moleculelor, prin membrana celulară se remarcă două forme de transport transmembranar : transportul pasiv şi transportul activ.

2.7.1.1. Transportul pasiv

Realizează trecerea moleculelor mici prin membrana celulară în sensul gradientului de concentraţie, iar în cazul unor ioni, în sensul gradientului electrochimic. Acest transport se face *fără consum de energie* (foloseşte energia care rezultă din mişcarea moleculelor dintr-o parte în alta în sensul gradientului) ; este deci independent de metabolismul celular.

Transportul pasiv are loc prin difuziune simplă şi prin difuziune facilitată.

a) Transportul pasiv prin difuziune simplă. Pentru moleculele mici, *neionizate*, difuziunea simplă prin membranele biologice se face în cazul celor liposolubile prin bistratul lipidic, iar pentru *moleculele ionizate* şi cele hidrosolubile prin *canale* sau *pori hidrofili*, delimitaţi de proteinele integrale din membrană (fig. 2.24).

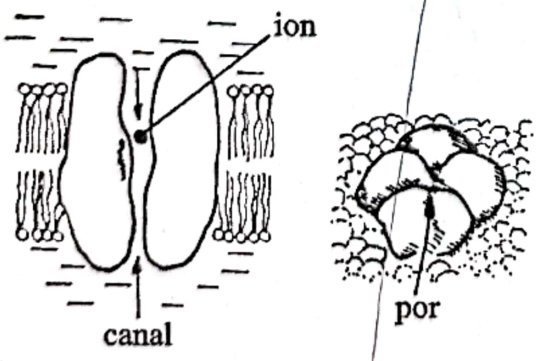


Fig. 2.24. ***Transportul pasiv prin canale şi pori***

b) Transportul prin difuziune facilitată este mecanismul prin care unele substanţe greu solubile în lipide şi cu o masă moleculară relativ mare sunt transportate mult mai rapid decât prin difuziune simplă (100000 x). Difuziunea facilitată este frecvent întâlnită la hepatocite, fiind modalitatea de transport pentru glucoză, aminoacizi, glicocol, purine, etc.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru transportul facilitat există în structura membranei *molecule proteice* cu rol de *cărăuşi* care preiau substanţele pe o faţă a membranei şi le eliberează pe cealaltă faţă. Spre exemplu, la nivelul membranei hepatocitului, prin care în permanenţă se transportă o cantitate considerabilă de glucoză din/sau spre sângele circulant, există 800000 cărăuşi transportori şi fiecare cărăuş transportă 180 molecule de glucoză pe secundă.

2.7.1.2. Transportul activ

Se realizează împotriva gradientelor de concentraţie sau a celor electrochimice, realizând o creştere a concentraţiei de câteva ori pe o faţă a membranei şi cu un consum de energie furnizat de metabolismul celular, deci este *metabolic-dependent*. Căile furnizoare de energie necesară pentru transportul activ sunt dependente de celulă. Astfel, celulele înalt diferenţiate (fibra musculară, neuronii, etc.) folosesc în principal căile aerobe producătoare de ATP. În alte celule (de ex. hematii) sunt folosite pentru transport, molecule de ATP furnizate prin glicoliză.

În organism se cunosc pompele transportoare ioni-cationi (de ex. pentru un singur ion, pompa de Ca^{2+}, pompa de Mg^{2+} ; sau pentru doi ioni – pompa Na^+- K^+). Pe lângă aceste pompe transportoare de ioni mai există în membrane sisteme de *transport cuplat* care, concomitent cu transportul de ioni, introduc apa sau o serie de alte molecule (glucoza şi aminoacizii). La baza acestui transport cuplat stă mecanismul de *pompare moleculară*.

În condiţii normale, K^+ se găseşte într-o concentraţie mai mare (aproximativ de 15 ori mai mare) intracelular, în timp ce Na^+ ocupă compartimentul extracelular.

Pentru menţinerea acestei concentraţii, există pentru celulă *pompa* $Na^+ - K^+$, care a fost studiată în special la nivelul membranei hematiei, unde s-a remarcat o deplasare concomitentă a Na^+ extracelular şi a K^+ intracelular. Energia necesară acestui transport provine din degradarea glucozei ; enzima care hidrolizează ATP-ul este Na^+-K^+ *ATP-aza*, localizată în plasmalemă (fig. 2.25). Această enzimă este o glicoproteină mare, un tetramer cu două subunităţi ($2\alpha - 2\beta$) cu o greutate moleculară de 270000 dal.

$$ATP + H_2O \xrightarrow[Na^+ - K^+ ATP\text{-aza}]{Na^+, K^+, Mg^{2+}} ADP + P_1 + H^+$$

Se cunosc şi pompe active pentru anioni : *pompa* Cl^- în *celulele parietale* (acidofile) din glandele gastrice şi *pompa* I^- în tiroidă.

Transportul cuplat al glucozei şi aminoacizilor este cu precădere activ în intestin şi tubul contort proximal al nefronului. În mod normal, urina nu conţine glucoză, deşi la nivelul corpusculului Malpighi se ultrafiltrează aproximativ 130 mg/minut. Acest aspect se explică prin faptul că la nivelul tubilor contorţi proximali are loc un transport al glucozei din lumen în nefrocite (celulele epiteliale ale tubului

Scanned with OKEN Scanner

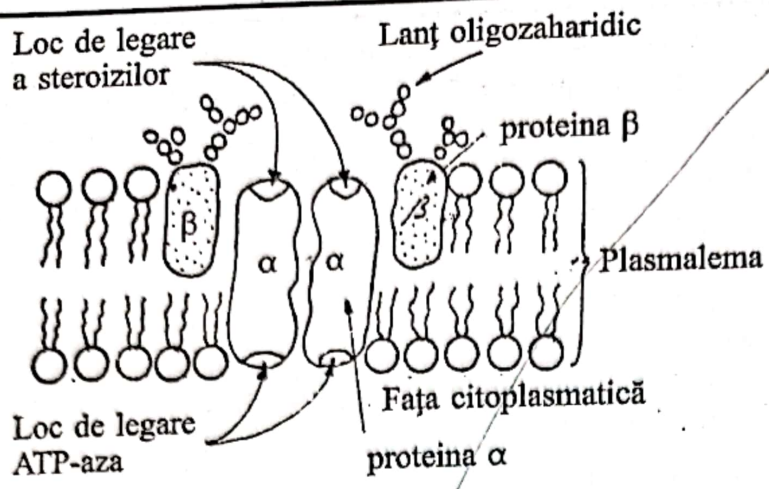


Fig. 2.25. *Na^+ – K^+ ATP-aza*

contort proximal) şi apoi în sânge. Această resorbţie se face împotriva gradientului de concentraţie, deci, printr-un mecanism de transport activ. Transportul activ al glucozei se realizează printr-un mecanism enzimatic, cu condiţia ca glucoza să se cupleze cu Na^+ (fig. 2.26). Ionii de Na^+ ajunşi în celulă odată cu glucoza vor fi pompaţi înafară printr-o Na^+ —— K^+ ATP-aza.

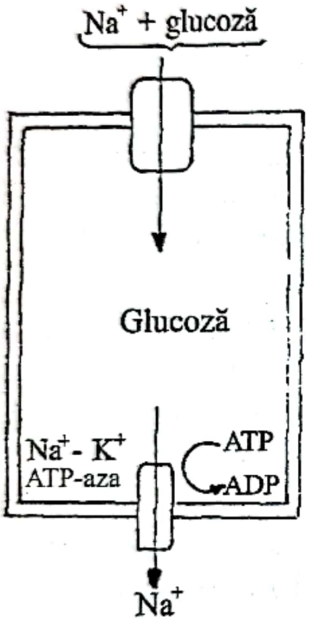


Fig. 2. 26. *Model de transport al ionilor de Na^+ şi K^+ cuplat pentru glucoză*

2.7.2. Transportul în masă (prin vezicule)

Se pot distinge trei procese : *exocitoza* (transportul din citoplasmă în exterior) ; *endocitoza* (spre interiorul celulei) şi *transcitoza* (prin vezicule ce străbat celula dintr-o parte în cealaltă) (fig. 2.27).

Exocitoza (gr. *exocytosis* = descărcare în afara celulei). Proteinele, glicoproteinele şi lipoproteinele produse pentru export sunt antrenate prin vezicule (granule de secreţie), de la aparatul Golgi la plasmalemă, fie spontan, fie în urma stimulării celulei de către un factor *secretagog* (gr. *secretagog* = care stimulează secreţia), de obicei hormoni, factori de eliberare sau neurotransmiţători. Prezenţa moleculelor de ATP şi AMP-c şi a ionilor de Ca^{2+} provoacă contracţia microfilamentelor care determină deschiderea veziculelor şi eliminarea conţinutului în spaţiul extracelular. Membrana veziculelor este rapid recuperată şi reciclată în cadrul procesului secretor. În celulele exocrine, competenţa pentru exocitoză este limitată la domeniul apical (luminal) al plasmalemei.

Exocitoza apare la nivelul sinapselor, când, veziculele ce conţin mediatori chimici *(acetilcolină, noradrenalină)* fuzionează cu membrana presinaptică. Mediatorii chimici vărsaţi în spaţiul sinaptic se leagă de receptorii specifici din membrana postsinaptică, producând depolarizarea ei, astfel are loc transmiterea influxului nervos.

Scanned with OKEN Scanner

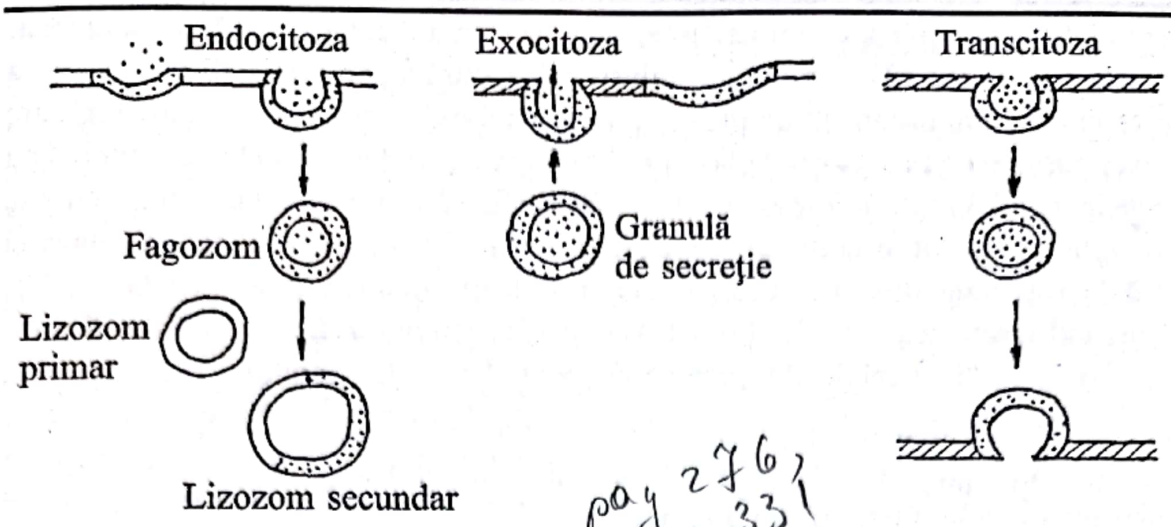


Fig. 2. 27. ***Transportul prin vezicule: endocitoza, exocitoza şi transcitoza***

Endocitoza este înglobarea în masă de către celulă a macromoleculelor cu G.M. > 10000 în invaginări şi apoi în vezicule ce se formează din membrana celulară. Ea are un rol deosebit de important în unele procese fiziologice: nutriţia celulei, purificarea mediului extracelular şi procesele de apărare ale organismului. După natura materialului endocitat şi după mecanismul înglobării se disting două tipuri de endocitoză: a) endocitoza de molecule, particule, microorganisme, detritus celular, celule, neînsoţite de fluid, numită *fagocitoză* (gr. *phagein* = a mânca); b) endocitoza de fluid conţinând molecule sau particule, numită *pinocitoza* (gr. *pinein* = a bea).

2.7.2.1. Endocitoza particulelor fără fluid (fagocitoza)

În fagocitoză, particula *non-self* (engl. *non-self* = străini de structurile organismului) care este înglobată, se fixează direct sau prin *opsonine* (*opsonine* = proteine extracelulare care mediază şi facilitează legătura între receptorii membranari ai fagocitelor şi antigenele care vor fi fagocitate) de *receptorii specifici,* situaţi în anumite regiuni ale membranei celulare. Cu ajutorul receptorilor, celulele recunosc ceea ce este *„self"*, macromoleculele proprii organismului, de ceea ce este *„non-self"*, macromoleculele străine de organism, definite cu un termen generic *„antigeni"*. Dintre substanţele self, receptorii pentru fagocitoză recunosc ceea ce este sănătos de ceea ce este alterat *„self alterat"* (celule degenerate, celule îmbătrânite, resturi tisulare, celule maligne etc.). Ocazional, la unii indivizi, celulele sistemului pierd această abilitate de diferenţiere a selfului de non-self şi acţionează împotriva proteinelor organismului propriu. În aceste situaţii iau naştere *reacţiile autoimune*, care pot genera entităţi patologice, adesea cu sfârşit letal.

Fagocitoza este caracteristică unui număr mare de tipuri celulare: microfage (neutrofile), macrofage mobile (monocitele circulante), macrofage fixe (histiocitele ţesutului conjunctiv), celulele Kupffer din ficat, celulele sinusoidale din splină, celulele

Scanned with OKEN Scanner

adventiciale ale vaselor sanguine, unele celule din măduva osoasă hematogenă, limfonozi, pulmon etc. Deoarece antigenii sunt de natură foarte diferită, recunoaşterea lor este înlesnită în organism de prezenţa în mediul extracelular a opsoninelor, care sunt recunoscute de receptorii de la suprafaţa fagocitelor. Opsoninele se combină cu antigenele, rezultând *complexe antigen-opsonină* (fig. 2.28). Până în prezent se cunosc două tipuri de receptori ai complexelor antigen-opsonină : *receptorii* F_c care recunosc şi fixează la suprafaţa membranei antigenii opsonizaţi cu imunoglobulina G (Ig G), recunoscând fracţiunea cristalizabilă (F_c) a *Ig G*; *receptorii* C_3 recunosc şi fixează antigenii opsonizaţi cu cel de al treilea component al complementului.

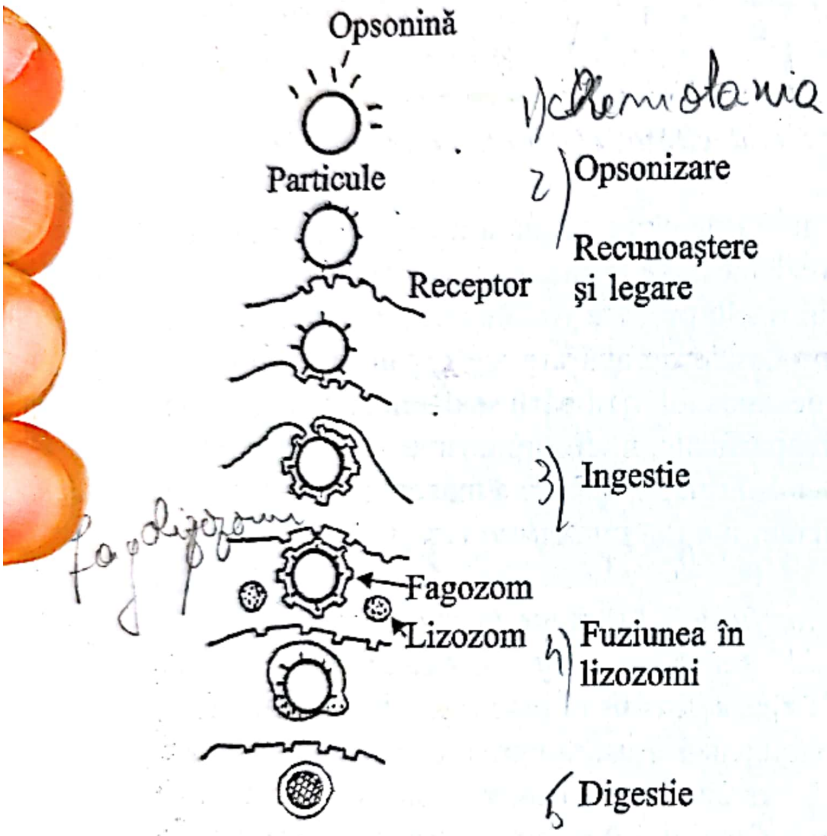


Fig. 2. 28. ***Fagocitoza, opsonizarea şi formarea fagozomului***

În membrana fagocitelor, înafară de receptorii pentru complexe opsonizate, s-au descris *receptori nespecifici* care recunosc şi fixează „selful alterat" reprezentat de resturi celulare sau celule maligne. Fagocitoza efectuată de neutrofile se desfăşoară în cinci etape : chemotaxia şi motilitatea, opsonizarea, ingestia, degranularea, omorârea intracelulară a microorganismelor.

Chemotaxia (chemotactismul) este proprietatea unei celule mobile, în cazul de faţă a neutrofilelor, de a recunoaşte şi a răspunde la diferiţi stimuli care să determine migrarea lor prin ţesuturi către particula ţintă. Semnalele chemotactice pot fi componentele bacteriene (proteine, lipide), sau ale organismului : proteine serice (*kallicreina*), componentele sistemului complement (15 proteine serice care amplifică răspunsul imun), produse ale limfocitelor (limfokine), factori eliberaţi de neutrofile etc.

Opsonizarea constă în acoperirea bacteriilor sensibilizate de anticorpi, pentru a fi fagocitate. Principalele opsonine pentru neutrofile sunt anticorpii, în special Ig G, mai ales Ig G_1 şi Ig G_3, precum şi componente ale complementului C_3 şi C_5, în special C'_{5a}. Fracţiunea cristalizabilă (F_c) a Ig G este recunoscută de receptorii F_c de pe suprafaţa neutrofilelor.

Ingestia microorganismelor are loc după ce acestea au fost opsonizate. Complexul antigen-opsonină este recunoscut de receptorii de la suprafaţa fagocitelor şi fixat de membrana celulară, determinând *activarea receptorilor.* Această activare duce la agregarea proteinelor contractile bogate în actină de la nivelul citoscheletului şi determină emiterea de *pseudopode.* Ele înconjoară strâns particula şi ca urmare, apar interacţiuni receptor-particulă pe toată suprafaţa ei, mecanism descris *„în fermoar"*, care fixează particula de membrana pseudopodelor. Pseudopodele care înconjoară particula se unesc şi la locul de unire fuzionează, favorizând formarea unei vezicule care cuprinde particula fără lichid denumit *fagozom* din citoplasma neutrofilului. Fagozomul se uneşte cu granulele azurofile primare (lizozomii). Astfel se formează *fagolizozomii,* a căror hidrolaze acide vor acţiona asupra particulei străine. Eliberarea conţinutului granulelor în fagolizozom duce la *degranularea neutrofilului,* proces în care granulele dispar din citoplasmă, fiind revărsate în vacuola digestivă.

Omorârea intracelulară a microorganismelor în fagolizozomii neutrofilului se produce prin: a) sisteme dependente de oxigen mediate de mieloperoxidază, superoxiddismutază etc.; b) sisteme independente de oxigen ce presupun acţiunea lizozimului, lactoferinei etc.

2.7.2.2. Endocitoza particulelor în faza fluidă (pinocitoza)

Pinocitoza este procesul de transport în masă a unei cantităţi variabile de fluid tisular împreună cu particulele pe care le conţine prin intermediul *pinozomului.* Reprezintă modalitatea prin care celulele preiau din fluidul tisular substanţele necesare metabolismului celular. Poate fi de două tipuri: *pinocitoza fără receptori* şi *pinocitoza mediată de receptori.*

a) Pinocitoza fără receptori reprezintă preluarea substanţelor din mediul extracelular în vezicule, fără fixarea lor prealabilă pe receptori din plasmalemă. Este forma de endocitoză cea mai frecvent întâlnită la celulele organismului ce utilizează suprafeţe mari din plasmalemă. Etapele pinocitozei sunt:

- contactul particulelor din fluidul tisular cu învelişul celular, care duce la activarea anumitor situsuri anionice de suprafaţă, ce induce agregarea microfilamentelor din citoschelet, determinând flexibilitatea accentuată a membranei celulare;
- membrana celulară flexibilă se invaginează, formând cripte adânci, sau canale intracelulare ce cuprind fluidul extracelular şi particulele;
- în vecinătatea capătului înfundat al canalelor, plasmalemele adiacente se apropie şi fuzionează, formând *pinozomi* care se desprind şi sunt antrenaţi în citoplasmă de curenţii intracitoplasmatici;
- din unirea pinozomilor cu lizozomii rezultă *pinolizozomii,* în care enzimele lizozomale degradează conţinutul lor.

După mărimea particulelor înglobate prin pinocitoză deosebim: *macropinocitoză* şi *micropinocitoză.*

Scanned with OKEN Scanner

Macropinocitoza este vizibilă la microscopul optic şi reprezintă calea de transport a unor particule mari din mediul extracelular împreună cu o cantitate mică de lichid. Ea poate fi urmărită prin injectarea intravitală de coloranţi coloidali care se fixează de proteinele serice. Complexele (proteine serice-coloranţi coloidali) sunt înglobate în citoplasma celulelor împreună cu mari cantităţi de fluid şi pot fi vizualizate în celule. Prin această tehnică se recunosc celulele care manifestă pinocitoză la nivelul organelor şi ţesuturilor.

Micropinocitoza este calea de transport a moleculelor mici în vezicule vizibile numai la microscopul electronic. Veziculele pinocitate (pinozomii) prin micropinocitoză pot rămâne în citoplasmă unde îşi varsă conţinutul în lizozomi şi membranele pinozomale sunt reintegrate în membrana celulară sau pot să traverseze citoplasma fără să se unească cu lizozomii şi să-şi descarce conţinutul pe cealaltă faţă a celulei *(transcitoză)*. G.E. Palade (1953) a fost primul care a descris prin microscopia electronică, în citoplasma celulelor endoteliale, vezicule ce traversează celulele dintr-o parte în alta. El a sugerat că aceste vezicule au rol important în transportul macromoleculelor din plasma sanguină în afara peretelui vascular. Transportul veziculelor pinocitate prin transcitoză are loc prin două modalităţi (fig. 2.29) :

- *transcitoză distributivă* în care trecerea se face sub formă de şiraguri a veziculelor de pe o faţă a membranei pe cealaltă, fără contact cu lizozomii ;
- *transcitoză conectivă* în care transportul se face prin canale ce rezultă fie din unirea veziculelor, fie prin invaginarea plasmalemelor.

b) Pinocitoza mediată de receptori (adsorbtivă, selectivă, concentrativă) constă în înglobarea unor molecule prin invaginarea unor zone specializate ale membranei celulare, în care receptorii leagă aceste molecule (*liganzi*). Aceste invaginări sunt numite *caveole acoperite,* deoarece sunt acoperite pe faţa plasmatică, de un înveliş proteic *(clatrină)* ce stabilizează poziţia receptorilor şi menţine caveola în comunicare permanentă cu mediul extracelular (fig. 2.30).

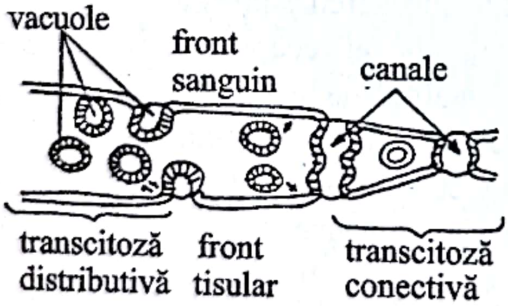


Fig. 2.29. ***Transcitoza în endoteliul vascular***

Complexele moleculare liganzi-receptori sunt încorporate împreună cu mici cantităţi de fluid în *vezicule acoperite* sau în *receptozomi* (vezicule netede ce rezultă prin pierderea învelişului de clatrină). În aceste vezicule, concentraţia substanţelor endocitate este mai mare decât în fluidul extracelular, datorită capacităţii selective de fixare a lor de către receptori.

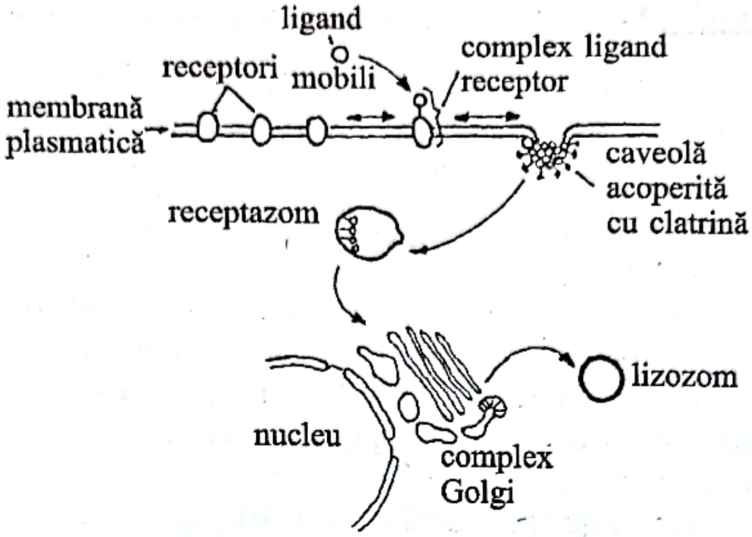


Fig. 2.30. ***Etapele morfologice ale pinocitozei mediate de receptori***

Particulele înglobate prin pinocitoza mediată de receptori sunt deobicei degradate în lizozomi; uneori receptozomii traversează citoplasma fără să interacţioneze cu lizozomii, iar conţinutul lor este exocitat.

Transportul prin pinocitoză mediată de receptori este o cale folosită pentru captarea din fluidul extracelular a unor cantităţi importante de lipoproteine cu densitate mică *(LDL-low density lipoproteins)*, forma circulantă a colesterolului în sânge. La indivizii cu receptori anormali pentru LDL (care nu pot lega LDL), nu se pot capta LDL în celulă, în consecinţă se produce *hipercolesterolemie* care duce la formarea prematură de plăci aterosclerotice în peretele vascular şi de aici complicaţiile bolii ateroscleroză.

Scanned with OKEN Scanner

3. CITOPLASMA

Citoplasma este teritoriul celular aflat între plasmalemă şi nucleolemă (învelişul nuclear). Ea este constituită dintr-o *matrice citoplasmatică* (hialoplasmă, citoplasmă fundamentală) în care sunt cuprinse *organitele* citoplasmatice.

3.1. Matricea citoplasmatică

Are două faze : *faza fluidă (citosolul)* format din apă, electroliţi, molecule organice mici, proteine solubile şi *faza solidă* ce conţine un număr mare de ansambluri moleculare care se comportă ca structuri solide. În matricea citoplasmatică pot apare şi diferite molecule de glicogen, lipide, pigmenţi, ce se depozitează sub formă de *incluziuni citoplasmatice.*

Organitele citoplasmatice sunt de diferite mărimi, unele din ele de ordinul micrometrilor, observabile la microscopul optic (complexul Golgi, mitocondriile, centrul celular, ergastoplasma), şi altele mai mici, de ordinul nanometrilor, care pot fi observate numai la microscopul electronic (ribozomii, reticulul endoplasmic neted şi rugos, microfilamente, microtubuli). Unele organite intracitoplasmatice nu sunt delimitate de endomembrane – 6 nm (ribozomi, centrioli, microtubuli, microfilamente) şi se află în permanent proces de polimerizare-depolimerizare ; altele apar delimitate de endomembrane (complexul Golgi, mitocondriile, peroxizomii, lizozomii, reticulul endoplasmic).

ORGANITELE :

I. mişcării celulare
- microfilamentele de
  - actină – 6 nm
  - miozină – 10 nm
  - *) sistemul actină-miozină (A-M)
- microtubulii – 25 nm
  - *) sistemul motil microtubul-dineină (M-D)

II. generatoare de energie – mitocondriile (M) – 0,5-1-3 μm

III. sintezei şi secreţiei
- ribozomii (R), granulele Palade 15-30 nm
- reticulul endoplasmic
  - rugos, granular (RER ; REG)
  - neted (REN)
- complexul Golgi (CG)

IV. digestiei celulare
- lizozomii (L) 200-800 nm
- peroxizomii (P) 300-500 nm

Organitele delimitate de endomembrană de 6 nm :
M ; RER ; REN ; CG ; L ; P.

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul endomembranelor reprezintă ansamblul format din reticulul endoplasmic, complexul Golgi şi învelişul nuclear care se află în continuitate structurală şi funcţională (fig. 3.1).

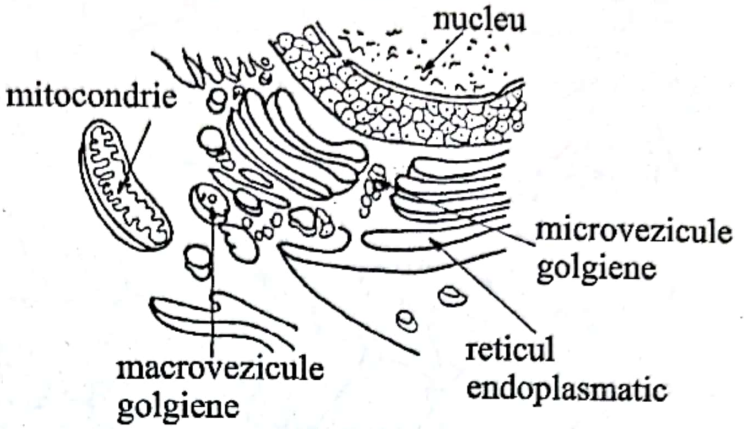


Fig 3.1. ***Sistemul endomembranelor***

Organitele celulare au *funcţii specifice*, diferenţiate, dar şi *funcţii comune*: producerea de molecule necesare celulei sau destinate exportului (ribozomii, reticulul endoplasmic rugos şi neted, complexul Golgi), dezintoxicare (reticulul endoplasmic neted, peroxizomii), digestia intracelulară (lizozomii, peroxizomii), producerea de energie (mitocondriile), mişcarea intracelulară şi celulară (microfilamentele, microtubulii, centriolii, cilii, flagelii), sau *funcţii speciale* în celulele, musculare (microfilamente), în celulele epiteliale (tonofilamente) şi în celulele nervoase (neurofilamente).

3.2. Citoscheletul

Este o reţea complexă, tridimensională de filamente proteice şi microtubuli care străbat întreaga matrice citoplasmatică, întretăindu-se în toate direcţiile şi de care depind forma celulei, mişcările celulare, organizarea internă spaţială a citoplasmei (menţinerea în anumite poziţii a organitelor celulare sau asocierea într-un mod specific a enzimelor anumitor căi metabolice) (fig. 3.2). Se consideră că citoscheletul ar putea fi *„oasele şi muşchii"* celulei eucariote. În alcătuirea citoscheletului intră: *microfilamente de actină, microfilamente intermediare şi microtubuli*. Caracterul dinamic îl asigură procesele de polimerizare şi depolimerizare ale microfilamentelor de actină şi ale microtubulilor. Aceste două componente ale citoscheletului se asamblează şi se dezasamblează rapid în celulă, existând în citosol un depozit permanent de monomeri (*actinele G* – globulare şi *dimerii de tubulină – alfa şi beta*). Microfilamentele intermediare sunt structuri mult mai stabile decât microfilamentele şi microtubulii.

Microfilamentele şi microtubulii au polaritate, adică depolimerizarea şi polimerizarea au viteze diferite la capete. Astfel, la un capăt viteza polimerizării este mult mai mare ca cea a depolimerizării. Rezultatul este că la acest capăt (notat cu +) microfilamentul de actină sau microtubulul se alungeşte. Dimpotrivă, la capătul opus (notat cu -), viteza depolimerizării este mai mare. La o anumită concentraţie de

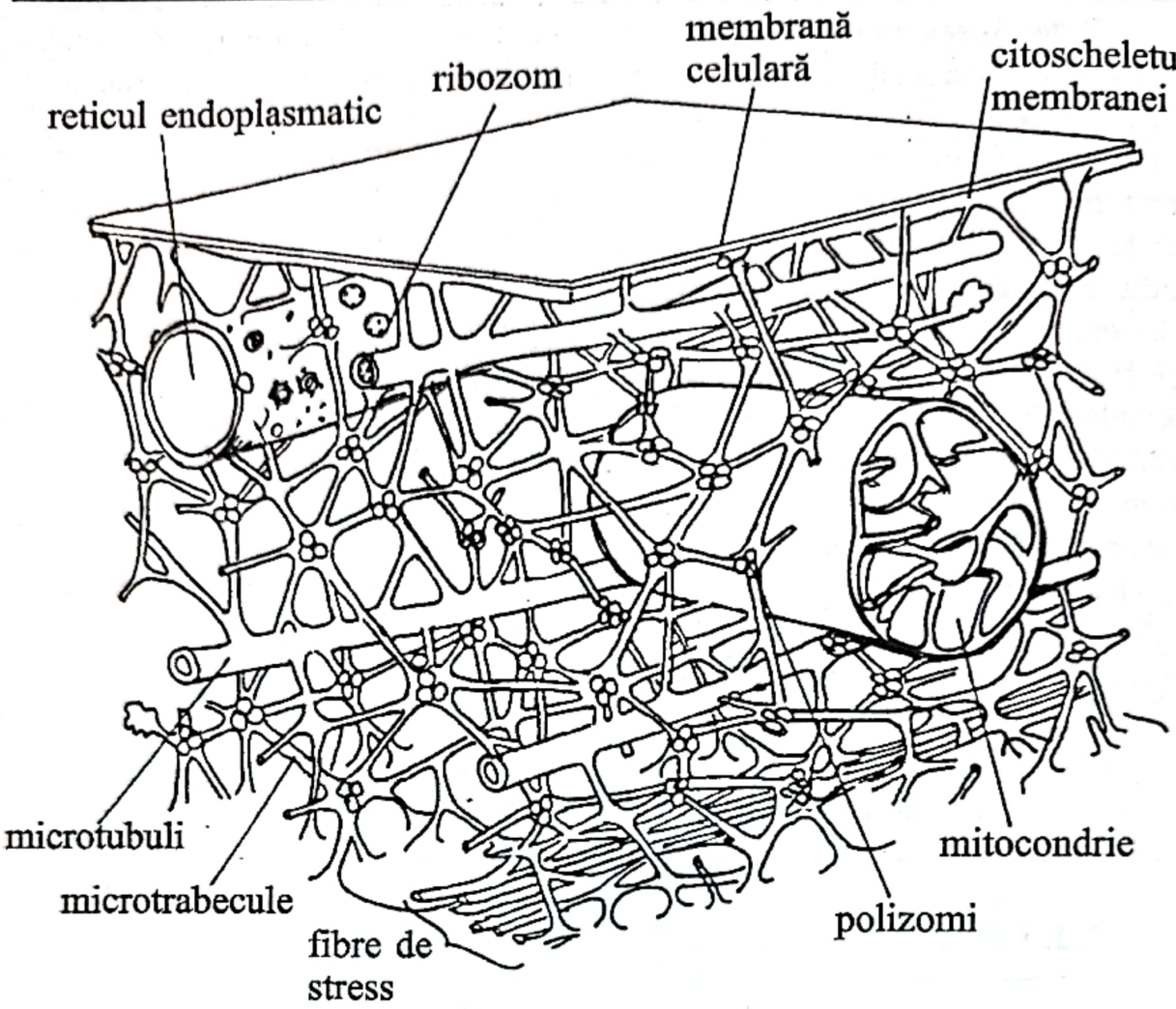


Fig. 3.2. ***Schemă reprezentând citoscheletul şi microtrabeculele, legătura dintre ele şi organitele celulare***

monomeri liberi în citosol, microfilamentul sau microtubulul se află într-o stare de echilibru, în care la un capăt se adaugă în mod predominant monomeri, pe când la celălalt se îndepărtează. Dacă se urmăreşte un grup de monomeri adăugaţi la capătul (+), acest grup se deplasează în lungul microtubulului, până la capătul (-), unde monomerii trec în citosol (fig. 3.3). Dacă se protejează capătul (-) şi se împiedică astfel depolimerizarea, rezultă creşterea lungimii microtubulului. De aceea microtubulii liberi au capătul (-) inserat în centrul celular, sau cei din cili sau flageli inserat în corpusculii bazali ai acestor structuri. Polimerizarea şi depolimerizarea celor două componente ale citoscheletului este influenţată de unele proteine : *profilina, villina, gelsolina ,filamina, alfa-actinina, fimbrina, miozina* pentru microfilamentele de actină, iar pentru microtubuli, *proteinele asociate microtubulilor* şi *proteinele tau.* Dinamismul citoscheletului este influenţat foarte mult de cationii bivalenţi. Astfel, ionii Ca^{2+} joacă un rol esenţial. În funcţie de concentraţie, Ca^{2+} induce polimerizarea sau depolimerizarea microtubulilor, reglează interacţiunile dintre actină şi miozină şi prin aceasta, contractilitatea.

Scanned with OKEN Scanner

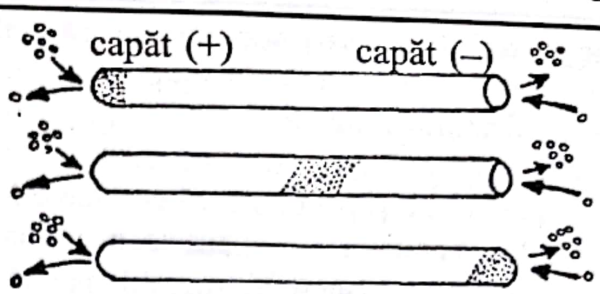


Fig. 3.3. ***Schema microtubulului ce indică la capătul (+) predominarea polimerizării şi la capătul (-) a depolimerizării***

Dinamismul citoscheletului este influenţat de cationii Ca^{2+}, aceştia în funcţie de concentraţia lor induc polimerizarea sau depolimerizarea microtubulilor şi interacţiunile dintre actină şi miozină. Ionul Ca^{2+} îşi exercită efectele sale prin intermediul unei proteine numită *calmodulina* formată din 148 aminoacizi, cu secvenţă asemănătoare cu *troponina C* (formă specializată a calmodulinei). Calmodulina este considerată a fi receptor unic intracelular pentru Ca^{2+}, deoarece a fost evidenţiată în toate celulele. Dinamismul citoscheletului este influenţat şi de *nucleotide.* AMP-c favorizează polimerizarea citoscheletului, induce aglomerarea microfilamentelor în citoplasmă şi în prelungirile celulelor ramificate.

Funcţiile citoscheletului sunt complexe :

- menţine forma celulei şi o adaptează la necesităţile funcţionale ;
- participă la realizarea tuturor mişcărilor celulei ;
- interacţionează cu plasmalema, aspect evidenţiat în special la hematii, la care sub plasmalemă a fost identificat un *citoschelet al membranei ;*
- interacţionează cu organitele citoplasmatice, microtubulii se asociază cu mitocondriile, ribozomii, lizozomii ;
- interacţionează cu macromoleculele din citosol, evidenţiindu-se enzime glicolitice legate de filamentele de actină ;
- este implicat în transportul proteinelor în lungul axonului neuronului.

Deoarece microfilamentele şi microtubulii vor fi în detaliu prezentaţi la capitolul „Organitele mişcării celulare", se vor descrie în continuare numai microfilamentele intermediare ce intră în structura citoscheletului.

3.2.1. Microfilamentele intermediare

Se numesc astfel, deoarece diametrul lor de 10 nm este cuprins între cel al microfilamentelor de actină de 6 nm şi cel al microtubulilor de 25 nm. Microfilamentele intermediare intră în structura citoscheletului şi se prezintă la microscopul electronic sub formă de filamente rectilinii sau uşor curbate. Caracteristic pentru microfilamentele intermediare este faptul că sunt structuri mult mai *stabile* decât microfilamentele de actină sau microtubulii. Microfilamentele intermediare odată asamblate nu se depolimerizează, în timp ce microfilamentele de actină şi microtubulii se află în echilibru cu un rezervor de monomeri de actină G şi dimerii de tubulină din citosol, deosebindu-se de celelalte două componente ale citoscheletului

prin proteinele din care sunt formate. Astfel, dacă actinele şi tubulinele sunt molecule globulare, proteinele din microfilamentele intermediare sunt molecule filiforme. Polimerizarea lor nu se face prin înşiruirea monomerilor, ci prin alăturarea şi împletirea lor ca într-o frânghie. În acest mod rezultă structuri rezistente ce pot fi întărite la nevoie şi prin legături covalente între subunităţi.

După proteinele componente, microfilamentele intermediare sunt de cinci tipuri :

- în celulele epiteliale, microfilamentele intermediare sunt formate din proteine asemănătoare keratinei din păr şi ongloane, numite *citokeratine ;*
- în celulele de origine mezodermică, ele sunt *vimentine* (lat. *vimentum* = nuia, rămurică ondulată), se mai găsesc în astrocite, celule Sertoli şi leiocite ;
- *desmina* sau *scheletina* formează prin polimerizare filamente tipice în majoritatea tipurilor de celule musculare ;
- *neurofilamentele* din celulele nervoase, care prin asociere cu microtubulii structurează *neurofibrilele,* cu un diametru de 1-2 μm ;
- *gliofilamentele* în celulele nevroglice.

3.3. Microtrabeculele

Sunt structuri fibrilare mai subţiri decât microfilamentele citoscheletului de 4-6 nm (lat. *microtrabecule* = mici bare), care formează o reţea ce străbate întreaga citoplasmă (fig. 3.2). În ochiurile reţelei se află apa şi ionii. De această reţea microtrabeculară se află legate şi enzimele din citosol (exemplu cele din glicoliză), ceea ce ar asigura trecerea substratului de la o enzimă la alta în mod coordonat. Macovschi (1981, 1984) identifică microtrabeculele cu suportul materiei biostructurate. Microtrabeculele protejează celula în cazul fluctuaţiilor conţinutului în apă, astfel când apa pătrunde în celulă, spaţiile dintre microtrabecule se dilată ; dimpotrivă, la deshidratarea celulei, spaţiile se contractă. În acest mod se asigură viabilitatea celulei. Microtrabeculele menţin suspendate în interiorul citoplasmei, atât organitele celulare, cât şi citoscheletul.

3.4. Organitele mişcării celulare

3.4.1. Microfilamentele

3.4.1.1. Microfilamentele de actină

Au diametrul de 6 nm şi sunt formate din molecule proteice reprezentate de actină. Moleculele de actină apar, fie sub formă polimerizată filamentoasă (*actina fibrilară* – AF), fie depolimerizată, monomerică (*actina globulară* AG) în citosol. Microfilamentele de actină se formează prin polimerizarea AG şi constau din două lanţuri de actină, înfăşurate unul în jurul celuilalt, formând un dublu helix răsucit spre dreapta, având pasul spiralei de 70-80 nm (fig. 3.4). Filamentul de actină are o

polaritate, adică cele două capete sunt diferite. Polaritatea filamentului de actină, vizibilă în felul cum interacţionează cu miozina, este esenţială pentru funcţia sa în motilitatea celulară. Fiecare moleculă de actină din microfilament este capabilă să lege câte un cap al moleculei de miozină (*fragmentul S_1*). Filamentele de actină se găsesc în toate celulele eucariote.

În *celulele nemusculare*, microfilamentele se pot găsi izolate, dar ele apar mai ales în mănunchiuri la periferia citoplasmei sub plasma-lemă. Ele mai intră în structura unor *inele contractile*:

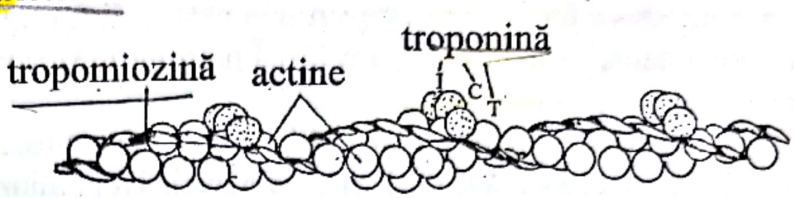


Fig. 3.4. ***Schema filamentului de actină din muşchi***

- *inelul tranzitoriu* ce apare în faza finală a diviziunii celulare (telofază) şi duce la strangularea citoplasmei şi separarea celor două celule fiice;
- *inelul permanent* aflat în zona apicală a celulelor epiteliale, numit şi *desmozom în centură*.

Microfilamentele de actină se mai găsesc sub formă de mănunchiuri în microvilii enterocitului, câte 10 - 40 în fiecare microvil.

Microfilamentele din celulele nemusculare au două roluri: *structural* sau de susţinere (suportul morfologic al prelungirilor, microvililor), şi *dinamic*, în mişcările celulare ce au la bază mecanismul molecular actină-miozină. Întotdeauna microfilamentele din celulele nemusculare conţin şi miozină asociată actinei. Microfilamentele de actină se află în echilibru cu monomerii de actină din citosol şi acest echilibru între polimerizarea şi depolimerizarea actinei joacă rol esenţial în mişcările celulare bazate pe actină-miozină. Polimerizarea actinei este însoţită de creşterea marcată a vâscozităţii citoplasmei, pe când depolimerizarea se asociază cu scăderea vâscozităţii. Aceste procese de polimerizare-depolimerizare a actinei, joacă rolul principal în tranziţiile către starea de gel şi cea de sol a citoplasmei.

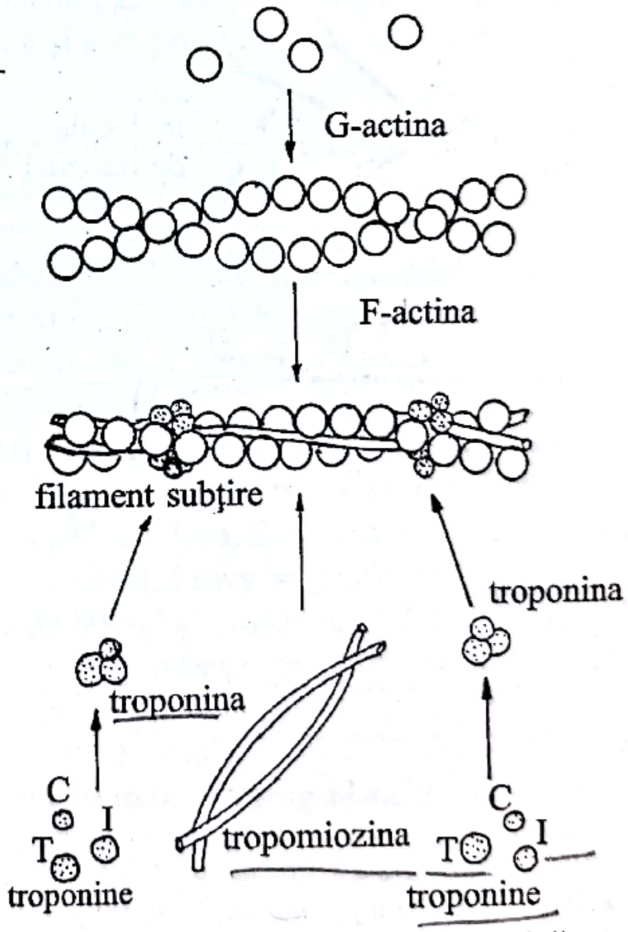


Fig. 3.5. ***Reprezentarea schematică a organizării moleculare a filamentului subţire***

Scanned with OKEN Scanner

În *celulele musculare*, microfilamentele de actină mai conţin şi alte proteine reglatoare, formând împreună *filamentele subţiri*. În cadrul acestora, la exteriorul filamentului de actină, pe toată lungimea lui se găsesc înfăşurate molecule alungite din proteina numită *tropomiozina*, care corespunde la 7 monomeri (fig. 3.5). Din loc în loc, pe lungimea filamentului se află dispusă o altă proteină numită *troponina*, un complex de trei polipeptide (troponinele T, I, C). *Troponina T*, strâns ataşată de tropomiozină, *troponina C* care leagă patru ioni de Ca^{2+} şi *troponina I* care inhibă interacţiunea actină-miozină.

În *celulele nemusculare* au fost evidenţiate proteine reglatoare a interacţiunii actină-miozină, asemănătoare tropomiozinei. Tropomiozina din celulele nemusculare corespunde la 6 monomeri de actină, în loc de 7 monomeri, aşa cum apare în fibrele musculare. Troponina însă, nu a fost bine precizată în celulele nemusculare. Au fost identificate şi proteine reglatoare asemănătoare troponinei C, care leagă ionii de Ca^{2+}. Ele au fost denumite *proteine modulatorii* sau *calmoduline.*

3.4.1.2. Microfilamentele de miozină

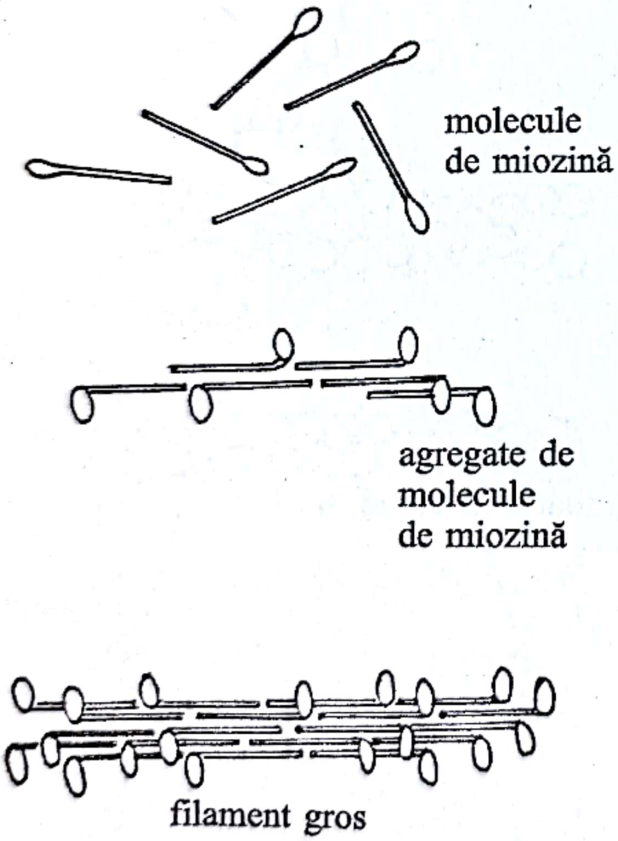


Fig. 3.6. ***Agregarea moleculelor de miozină pentru a forma un filament gros.*** Capetele moleculelor de miozină proemină pe suprafaţa filamentului gros, formând punţile transversale

Au diametrul de 10 nm şi se formează prin polimerizarea moleculelor de miozină şi anume, prin legarea cozilor moleculelor de miozină, în timp ce capetele rămân la exterior sub formă de punţi transversale (fig. 3.6).

Cu excepţia celulelor musculare, în celelalte celule, miozinele apar în cantitate mult mai mică decât actinele. Molecula de miozină are aspectul de *bastonaş* lung şi subţire cu o regiune globulară (*capul* moleculei) la una din extremităţi. Dimensiunile moleculei sunt: 160 nm lungime şi 2 nm grosime, regiunea globulară având 4-5 nm/15-20 nm. Capul moleculei de miozină este structurat din 2 subunităţi sau 2 lobi (fig. 3.7).

Din punct de vedere al alcătuirii polipeptidice, molecula de miozină este formată din: *două lanţuri grele*, fiecare cu o greutate moleculară de

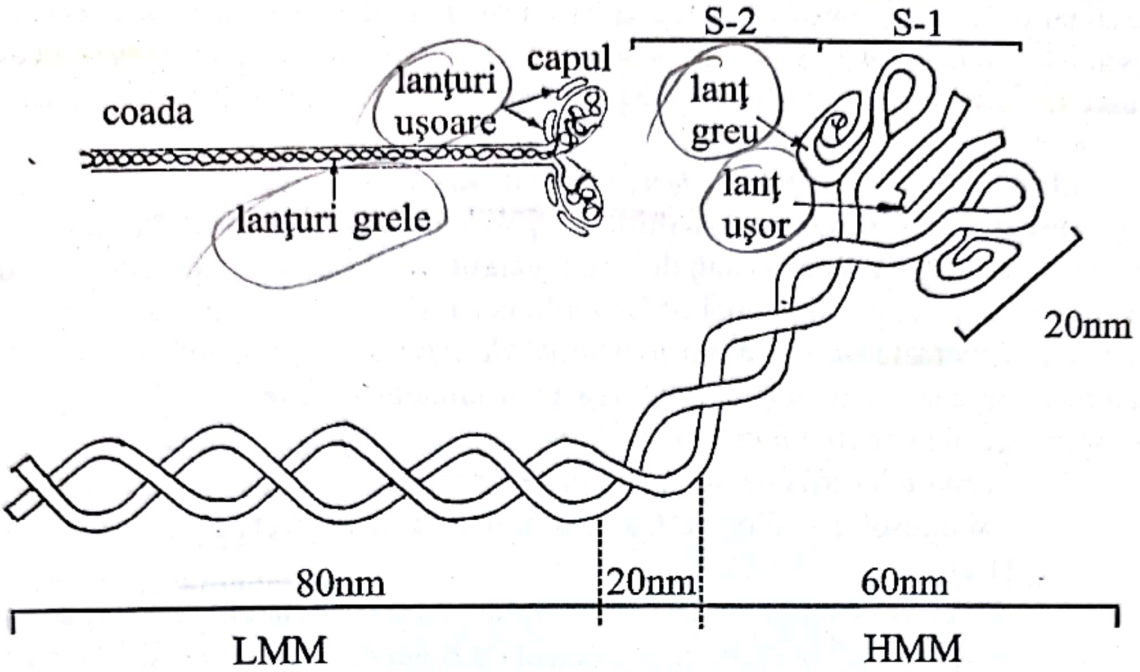


Fig. 3.7. ***Conformaţia moleculei de miozină*** : LMM-L-meromiozina ; HMM-H-meromiozina ; S-1 = subfragmentul 1, corespunzând punţii transversale, unde este localizată activitatea ATP-azică şi este prezent situsul de interacţiune cu actina ; S-2 = subfragmentul 2

cca 200 KD şi patru lanţuri uşoare, cu greutăţi moleculare de 15-20 KD. Cele două lanţuri grele se întind pe toată lungimea moleculei, iar *lanţurile uşoare* sunt localizate în capul moleculei de miozină, câte două pentru fiecare lob. Lanţul greu are două porţiuni distincte : o porţiune alungită alfa-helicoidală *(coada)* şi un *cap cu doi lobi*. Porţiunile alungite ale lanţurilor grele sunt răsucite în spirală, una în jurul celeilalte, pe când capetele globulare rămân separate. De fiecare lob se leagă câte o pereche de lanţuri uşoare.

Detalii asupra alcătuirii moleculei de miozină au fost obţinute prin studii de proteoliză, sub acţiunea *tripsinei*. Din molecula de miozină se formează două fragmente numite *meromiozine :* o meromiozină uşoară, *L-meromiozina* (engl. *light = uşor), LMM* şi alta grea, *H-meromiozina* (engl. heavy = greu) *HMM* (fig. 3.7). LMM apare ca un bastonaş cu lungimea de 80 nm şi grosimea de 2 nm, iar HMM are porţiunea liniară de 60 nm care se termină cu o porţiune globulară de 20/5 nm. LMM nu are activitate ATP-azică şi nu interacţionează cu actina. HMM poate fi scindată la rândul ei, sub acţiunea *papainei,* în două subunităţi : *subfragmentul 1 (S-1)* şi *subfragmentul 2 (S-2)*. S-1 are greutatea moleculară de 120 KD şi corespunde porţiunii globulare a HMM şi reţine cele două proprietăţi fundamentale ale miozinei native : activitate ATP-azică şi capacitate de a interacţiona cu actina. S-2 are greutate moleculară de 60 KD şi îi lipsesc aceste caracteristici.

Filamentele de miozină din *celulele nemusculare* sunt agregate mici, formate prin polimerizarea a circa *10-20 molecule de miozină* şi au caracter labil. De aceea sunt greu de observat şi, de obicei, în celulele nemusculare, miozina este asociată

Scanned with OKEN Scanner

cu actina, având rol în mişcările ce au la bază mecanismul actină-miozină. În celulele musculare polimerizează *câteva sute de miozine (200-500)*, formând filamentele groase de miozină de 10 nm ce se găsesc dispuse paralel cu filamentele subţiri de actină de 6 nm.

3.4.1.3. Funcţiile microfilamentelor de actină şi miozină

Filamentele de actină şi miozină joacă un rol important în *mişcările intracitoplasmatice* (migrarea granulelor de secreţie, deplasarea organitelor celulare în matricea citoplasmatică, fagocitoză, motilitatea microvililor, migrarea în citosol a granulelor pigmentare etc.), precum şi în *mişcările celulelor* (motilitatea fibroblastelor în culturi, mişcarea ameboidă, mişcarea prin emitere de pseudopode, mişcările morfogenetice ale epiteliului embrionar).

Implicaţia microfilamentelor în aceste procese celulare este dependentă de concentraţia în citosol a ionilor de Ca^{2+}, a moleculelor de ATP, a moleculelor de AMP-c, a pH-ului etc.

În *celulele musculare,* actina şi miozina alcătuiesc formaţiuni bine organizate şi stabile numite *microfilamente*, cu diametrul de *6 nm cele de actină* şi *10 nm cele de miozină*. Prin aşezarea lor orientată, realizează *miofibrilele* cu un diametru de 1-2 μm. Un *microfilament de actină* rezultă din polimerizarea a 600 molecule de actină, în timp ce un *microfilament de miozină* provine din polimerizarea a 200-500 molecule de miozină.

Moleculele de miozină şi actină apar cel mai bine organizate în microfilamentele şi miofibrilele muşchiului striat (scheletic şi cardiac), în care miofibrilele sunt dispuse paralel cu axul mare al fibrei musculare.

În fibra musculară striată de tip scheletic (rabdocit) a cărei lungime este de la câţiva mm la câţiva cm, miofibrilele în număr de 1000, au diametrul de 1-2 μm. Ele sunt organizate în pachete longitudinale, numite *colonete Leydig*, iar pe secţiune transversală în grupări de 30-50 miofibrile *(câmpurile Cohnheim)*.

Miofibrilele sunt alcătuite dintr-o succesiune alternantă de *benzi (discuri) : banda A,* anizotropă în lumina polarizată, întunecată în contrast de fază, mai intens colorabilă cu eosină; dimensiuni aproximative – 1,5 μm; *banda I,* izotropă în lumina polarizată, clară în contrast de fază, mai slab colorabilă cu eosină ; dimensiuni aproximative de 0,8 μm (fig. 3.8).

Banda A prezintă o bandă clară, *banda H (Hensen)*. Aceasta este bisectată de o bandă întunecată, *banda M* (de la Mittelinie, în germ. = linie de mijloc). *Banda clară I,* este bisectată de o linie întunecată, numită *linia Z* (din germ. *zwischen* = între).

Unitatea fundamentală de structură şi funcţie a miofibrilei este *sarcomerul (căsuţa Krause),* care se întinde de-a lungul miofibrilei pe distanţa de cca. 2,5 μm, fiind delimitat între două linii Z. Deci, un sarcomer cuprinde o bandă A şi cele două jumătăţi adiacente din benzile I. O miofibrilă din cele 1000 ale rabdocitului, este alcătuită din aşezarea cap la cap a câtorva zeci de mii de sarcomere (ex. într-un

Scanned with OKEN Scanner

rabdocit cu lungimea de 5 cm sunt 20000 sarcomere ; 20000 x 2,5 μm = 50000 μm = 5 cm).

Ultrastructura miofibrilei evidenţiază că este alcătuită din miofilamente ordonate, paralele cu axa longitudinală : *filamente subţiri de actină* (dimensiuni de 6 nm/2 μm) şi *filamente groase de miozină* (dimensiuni 10 nm/ 1,5 μm). Dispoziţia caracteristică a celor două tipuri de filamente în sens longitudinal de-a lungul miofibrilei stă la baza aspectului striat la microscopul optic, în contrast de fază sau în lumina polarizată. Astfel, filamentele groase sunt dispuse în mijlocul sarcomerului corespunzând zonei ocupate de banda A, iar la nivelul benzii I se găsesc numai filamente subţiri care pornesc de o parte şi de alta a benzii Z şi pătrund în discul A până la limitele zonei H, unde se găsesc numai filamente groase. Restul benzii este constituit dintr-o întrepătrundere a filamentelor groase şi subţiri. Astfel, pe secţiune transversală la nivelul benzii A, unde microfilamentele se întrepătrund, fiecare filament gros are în jurul său 6 filamente subţiri, realizând un model hexagonal şi fiecare filament subţire este înconjurat la rândul său de 3 filamente groase.

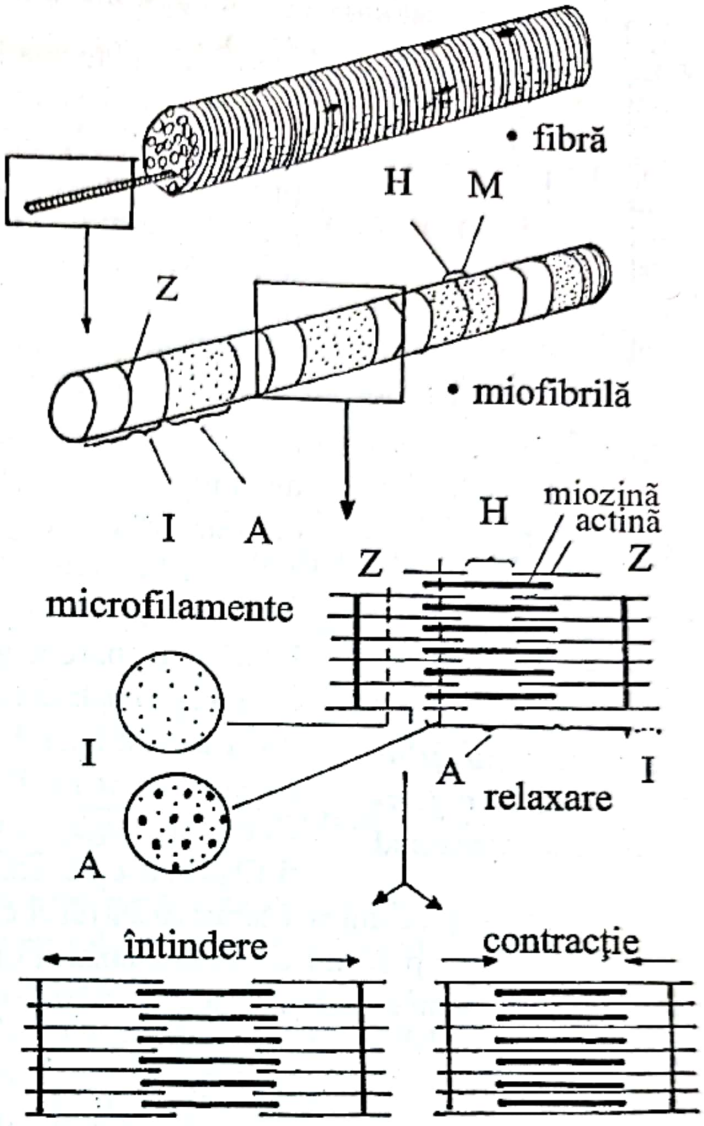


Fig. 3.8. ***Schema organizării substratului contractil din rabdocit*** : miofibrilele vizibile la MO şi miofilamentele vizibile la ME

Pe suprafaţa filamentelor groase se evidenţiază aşa numitele *punţi transversale* (capetele moleculelor de miozină) (fig. 3.9). Punţile transversale sunt reprezentate de HMM, subfragmentul S_1 ce interacţionează cu actina şi are activitate ATP-azică. Pentru un filament gros, format prin polimerizarea a 200 molecule de miozină, există 200 de astfel de punţi transversale.

Scanned with OKEN Scanner

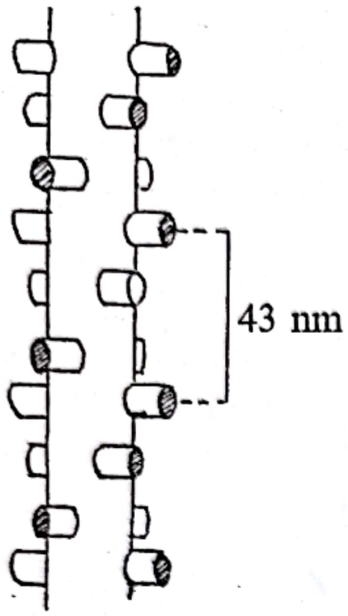


Fig. 3.9. *Reprezentare idealizată a aranjamentelor punţilor transversale în filamentul gros de miozină*

3.4.2. *Microtubulii*

Sunt formaţiuni cilindrice în citoplasmă cu diametrul constant de 25 nm, având lungimi variabile, până la câţiva μm. Se formează prin polimerizarea proteinelor numite *tubuline*, de aspect globular, cu greutatea moleculară de 50-60 Kdal. La polimerizare participă de fapt un *dimer (alfa-tubulina şi beta-tubulina)*. În cursul asamblării microtubulilor, dimerii de tubuline polimerizează, formând *protofilamente (protofibrile)* cu diametrul de 5 nm. În protofibrile, dimerii formează rânduri, în aşa fel încât, alfa-tubulina de la un dimer se leagă de beta-tubulina de la dimerul din rândul vecin (fig. 3.10).

Microtubulul este format prin aranjarea a 13 asemenea protofibrile sub forma unui cilindru, având interiorul aparent gol. La polimerizarea tubulinei, nucleotidul implicat este *guanozintrifosfat (GTP)* şi nu ATP (ca la actină). Hidrolizează numai o moleculă de GTP, iar *guanozindifosfatul (GDP)* şi cu cea de a doua moleculă de GTP rămân legaţi pe dimer. Microtubulii au polaritate ca şi filamentele de actină. În fiecare microtubul, adaosul dimerilor are loc predominant la un capăt (deci creşte într-o direcţie), în timp ce la capătul opus are loc predominant dezasamblarea (prin depolimerizarea tubulinei). Există în permanenţă un echilibru între microtubuli şi dimerii de tubulină din citosol.

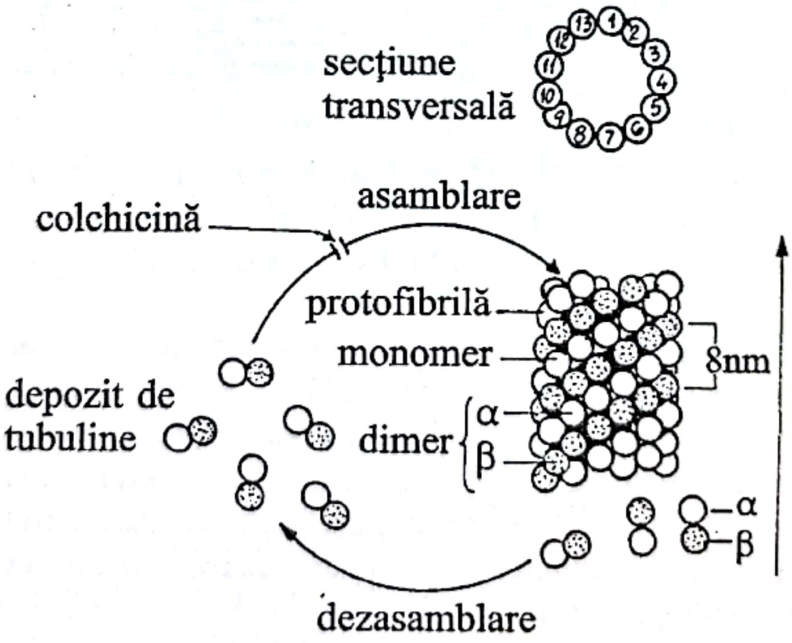


Fig. 3.10. *Schema asamblării unei protofibrile din dimerii de tubulină şi secţiune transversală printr-un microtubul, indicând cele 13 protofibrile*

Polimerizarea tubulinei este un proces de autoasamblare, care se petrece spontan, la temperatura de 37 °C, în timp ce la 0° C are loc depolimerizarea microtubulilor. Pentru polimerizare sunt necesari şi cationii bivalenţi Ca^{2+} şi Mg^{2+} în concentraţie micromoleculară. Procesul de asamblare-dezasamblare a microtubulilor este controlat de *calmoduline*.

Polimerizarea tubulinei este influenţată de *colchicină*, un alcaloid care blochează polimerizarea tubulinei, prin legarea unei molecule de colchicină de un dimer de tubulină. Pe această proprietate se bazează folosirea colchicinei „in vitro" la culturile de celule în diviziune pentru blocarea mitozei, prin depolarizarea fusului de diviziune. Astfel, cromozomii pot fi studiaţi în metafază pentru realizarea cariotipului la specia respectivă. Formarea microtubulilor este blocată şi de către *vinblastină* şi *vincristină*, folosite ca citostatice.

Microtubulii au două roluri principale în celulă : *structural* şi *dinamic*.

În privinţa rolului structural microtubulii contribuie la :

- menţinerea formei celulei şi a expansiunilor citoplasmatice (axon şi dendrite în neuroni, cili şi flageli) ;
- păstrarea geometriei spaţiale a organitelor citoplasmatice ;
- organizarea citoscheletului, determinând distribuţia filamentelor intermediare în celulă ;
- distribuţia filamentelor de actină, ex. *inelul contractil* de actină ce apare în telofază, între cei doi centri celulari ;
- formarea *„schelelor temporare"* pentru ca celula să-şi poată „construi" aranjamente speciale, ex. în cursul spermatogenezei când se dezvoltă flagelul spermatozoidului, apar microtubulii dispuşi în spirală în jurul axonemei, apoi dispar, lăsând locul lor mitocondriilor care se vor aranja spiralat în piesa intermediară a flagelului spermatozoidului.

Prin *rolul dinamic*, microtubulii asigură :

- toate mişcările celulare ce au la bază sistemul molecular motil *microtubul-dineină* (mişcarea cililor şi flagelilor) ;
- mişcările intracitoplasmatice cu migrarea granulelor de melanină în melanocite, transporturile intracitoplasmatice ale diferitelor molecule şi substanţe ;
- transportul axonal prin cele două fluxuri axonale, rapid, de 400 mm în 24 ore şi cel lent de 2 mm în 24 ore ;
- eliberarea proteinelor şi a lipoproteinelor sintetizate în hepatocite.

Microtubulii sunt prezenţi în citoplasma celulelor şi sub formă de structuri stabile cum ar fi *cilii* şi *flagelii* (vezi 2.4), centriolii din centrul celular şi fusul de diviziune.

3.4.2.1. Centriolii şi corpusculii bazali ai cililor şi flagelilor

Centriolii structurează în citoplasmă *centrozomul (centrul celular)* care este format din *doi centrioli* (fig. 3.11).

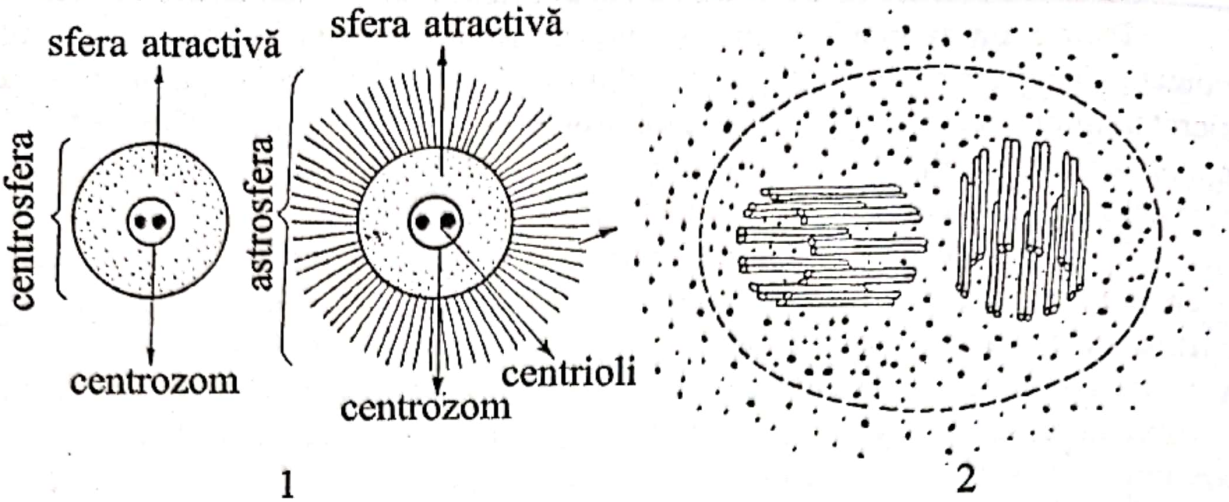


Fig. 3.11. ***Centrul celular la*** : 1. MO ; 2. ME.

Centrozomul este implicat în diviziunea celulară şi de aceea lipseşte în celulele înalt specializate (enterocit, rabdocit, neuron, eritrocit). Centrul celular devine foarte vizibil când celula se pregăteşte pentru diviziune. Totuşi, în intercineză, centrul celular se observă sub forma unui corpuscul intens cromatic (se colorează în negru cu hematoxilină ferică Heidenhein). Cu ob. imersie, se poate observa că acest organit este alcătuit dintr-o formaţiune ovalară numită *centrozom,* în centrul căreia se găsesc două granule mici – *centriolii.*

Centrozomul se află înconjurat de o masă citoplasmatică densă de aspect omogen numită *sfera atractivă* care împreună cu centrozomul formează *centrosfera.* În timpul diviziunii celulare, centrul celular capătă un aspect mai complex, şi anume, de la periferia centrosferei pornesc filamente citoplasmatice radiare, ce străbat citoplasma ca razele unui astru, constituind *asterul.* Figura morfologică pe care o îmbracă centrul celular în timpul cinezei, alcătuită din centrosferă şi aster, poartă numele de *astrosferă* care reprezintă *aparatul acromatic sau mitotic.*

La baza cililor şi flagelilor, a axonemei fiecăruia se găseşte întotdeauna prezent un centriol denumit *corpuscul bazal.* Microscopia electronică a dovedit că centriolii şi corpusculii bazali au structură identică şi deci, pot fi consideraţi ca două variante, cu specializări diferite. Centriolii din cadrul centrozomului evidenţiază motilitatea celulară, în special în timpul diviziunii celulare, în timp ce corpusculii bazali coordonează mişcarea cililor şi flagelilor.

La microscopul optic, centrozomul este situat în vecinătatea nucleului şi conţine în mijlocul său doi centrioli aşezaţi perpendicular unul peste altul, înconjuraţi de o masă de citoplasmă formată din proteine şi ARN, numită *material pericentriolar.* Centriolii şi corpusculii bazali, la microscopul electronic apar ca structuri cilindrice, cu lungimea de 0,5 μm şi diametrul de 0,15 μm. La periferia cilindrului se află *9 dublete sau 9 triplete* (câte 3 microtubuli), notaţi de la interior la exterior cu A, B şi C, înconjuraţi de o substanţă densă. Structura centriolului şi a corpusculului bazal este deci de tipul „0+9" dublete sau triplete periferice faţă de „2+9" în axonema cililor şi flagelilor.

Scanned with OKEN Scanner

Centrozomul este *centrul organizator al microtubulilor* prin faptul că materialul pericentriolar determină polimerizarea dimerilor de tubulină şi asamblarea microtubulilor care au capătul (-) în centrozom şi capătul (+) liber, cu creştere rapidă. Microtubulii nu provin direct din centriol, ci din materialul pericentriolar.

Prin funcţia sa de organizator temporar, spaţial şi vectorial al microtubulilor, centrozomul este implicat în toate procesele prin care microtubulii apar ca *„organizatori ai citoscheletului"*. Are rol în direcţionarea mişcărilor de locomoţie ameboidală a fibroblastelor şi leucocitelor, în aceste celule, centrozomul situându-se anterior nucleului pe direcţia mişcării. Pe lângă acestea i se atribuie rol şi în definirea polarităţii celulei, prin faptul că centrozomul (ca şi aparatul Golgi) se află în celulele epiteliale, dispus întotdeauna apical faţă de nucleu.

3.4.2.2. Fusul de diviziune

În interfază, centrozomul se află situat în vecinătatea nucleului şi din el pornesc microtubulii în toată citoplasma. În timpul fazei *sintetice „S"* a ciclului celular (când are loc sinteza de ADN) începe dublarea centriolilor. Centriolii se separă şi în vecinătatea fiecăruia se asamblează câte un centriol nou, perpendicular pe cel vechi, rezultând doi centrozomi. Urmează apoi îndepărtarea treptată a celor doi centrozomi spre polii celulei, iar între cei doi centri celulari apar *microtubulii* (filamente dispuse sub forma unui *fus de diviziune*) (fig. 3.12). Filamentele fusului de diviziune sunt alcătuite *fiecare* dintr-un mănunchi de circa *100 microtubuli* pe care sunt asociate proteine. Există un echilibru dinamic între microtubulii din fus şi moleculele solubile de dimeri de tubulină din citosol.

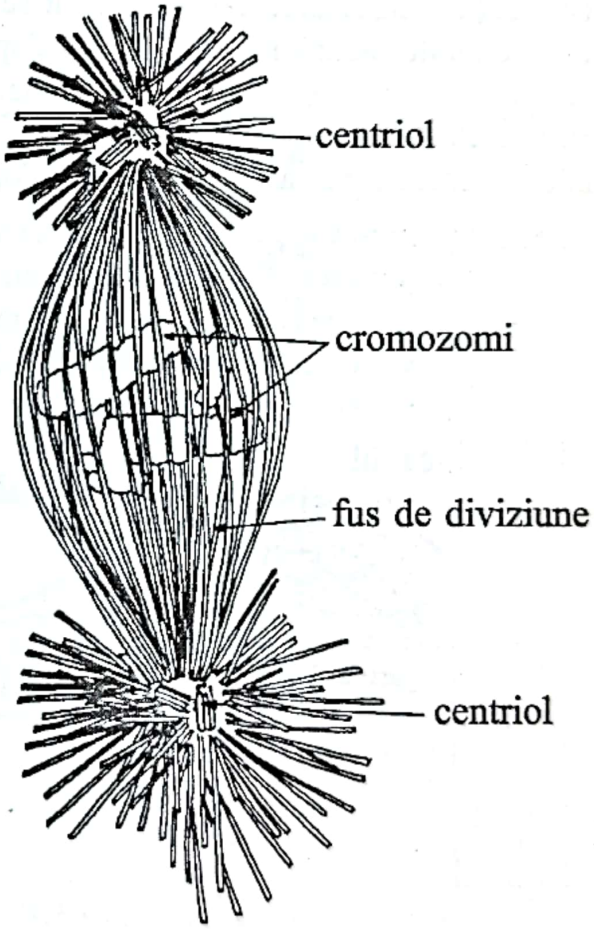


Fig. 3.12. ***Schemă electronooptică a organizării microtubulilor în fusul de diviziune***

3.4.3. Bazele moleculare ale motilităţii celulare

Modificările de formă şi mişcările celulare se datoresc acţiunii la nivel molecular a două sisteme motile de bază: sistemul *actină-miozină (A-M)* şi sistemul *microtubul -dineină (M-D)*. Mişcările celulare sunt extrem de variate, astfel se întâlnesc:

Scanned with OKEN Scanner

I.- Mişcări de tipul contracţiei musculare (A-M);
II.- Mişcări ce modifică raporturile dintre celulă şi mediul extern:
- mişcarea ameboidă la fibroblaste şi leiocite (A-M);
- mişcarea cu ajutorul flagelilor la spermatozoid (M-D);
- mişcarea cililor la celulele ciliate (M-D);
III.- Mişcări intracelulare:
- mişcările în cursul diviziunii celulare (M-D);
- mişcările din microvili (A-M);
- curenţii citoplasmatici (A-M).

3.4.3.1. Mişcări celulare având la bază sistemul motil actină-miozină

Aceste mişcări sunt: contracţia musculară, mişcarea ameboidală, mişcările din microvili şi curenţii citoplasmatici.

Sistemul actină-miozină explică în primul rând mecanismul molecular al contracţiei musculare, dar în prezent se consideră că şi în celulele nemusculare, interacţiunile actină-miozină au loc după acelaşi mecanism. Între filamentele de actină şi miozină se stabilesc punţi laterale între capetele globulare de miozină şi moleculele de actină de pe filamentele subţiri. Contracţia este explicată prin alunecarea microfilamentelor de actină pe cele de miozină. Pentru aceasta se desface puntea dintre miozină şi actină şi se restabileşte puntea cu monomerul următor din filamentul de actină (fig. 3.13).

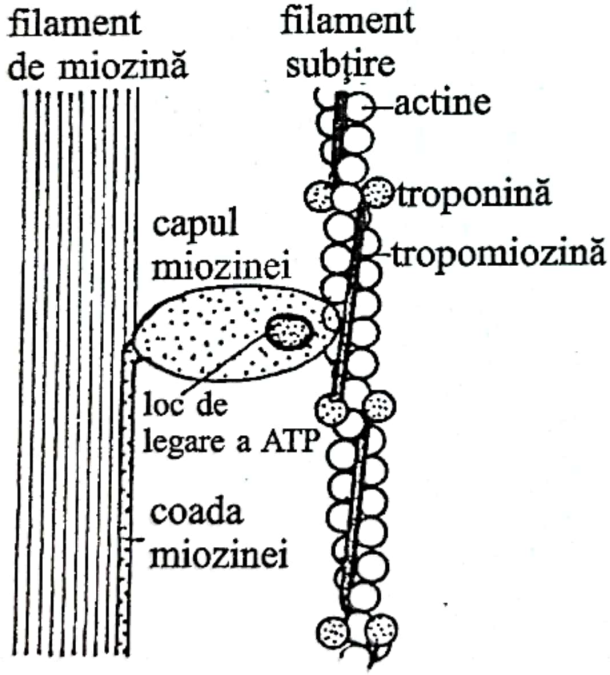


Fig.3.13 ***Sistemul molecular actină-miozină***

În acest mod, noua moleculă de actină ocupă poziţia actinei cu care s-a desfăcut puntea şi deci filamentul subţire se deplasează. Energia este furnizată de hidroliza ATP. Deplasarea este comparată cu mecanismul *„roţii cu clicheţi"*. Relaxarea se produce prin desfacerea simultană a tuturor punţilor dintre filamentele de actină şi miozină, ceea ce permite revenirea prin glisare a microfilamentelor de actină la poziţia iniţială.

Contracţia musculară în muşchii scheletici se produce prin glisarea (alunecarea) microfilamentelor subţiri de actină pe lângă cele groase de miozină, fără a se modifica lungimea lor. Modelul glisării a fost propus de Huxley în 1954 (fig. 3.14). Această glisare duce la scurtarea lungimii sarcomerului, iar suma scurtării tuturor sarcomerelor

Scanned with OKEN Scanner

duce la scurtarea fibrei musculare. Astfel, o scurtare a sarcomerului de la 2,5 μm la 2 μm (deci cu 20 %) sumată pentru 20000 sarcomere, duce la scurtarea lungimii fibrei musculare de la 5 cm la 4 cm. În contracţia musculară are loc scurtarea benzii clare I ; banda întunecată A nu se modifică. *Un rabdocit de 5 cm conţine într-o miofibrilă 20000 sarcomere, 5 cm = 50 mm = 50000 μm : 2,5 μm = 20000 sarcomere.*

Contracţia muşchiului scheletic se produce în momentul în care, excitaţia nervului motor al muşchiului, declanşează un potenţial de acţiune în plasmalema rabdocitului (la nivelul joncţiunii *neuro-musculare).* Semnalul electric se transmite rapid, în jurul fiecărei miofibrile printr-un sistem de *tubuli transverşi* ce se întind de la plasmalemă la fiecare miofibrilă. Semnalul electric este transferat apoi *reticulului sarcoplasmic* (o formă specializată a reticulului endoplasmic) (fig. 3.15). Acesta eliberează din cisternele sale în citosol cantităţi mari de Ca^{2+}, care produce contracţia datorită efectului său asupra troponinei şi tropomiozinei. Troponina constă în trei polipeptide (T, C, I), dintre care *troponina T* menţine în poziţie tropomiozina pe filamentul subţire.

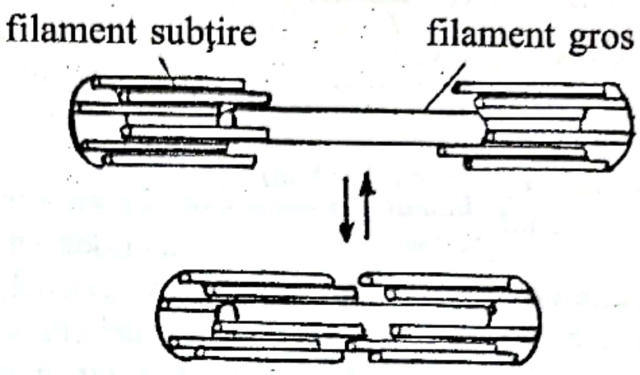


Fig. 3.14. ***Reprezentarea schematică a modelului glisării propus de Huxley***

Pe secţiune (fig. 3.16) se observă că tropomiozina se interpune ca un *„ic"* între actină şi capul miozină, în acest mod blocându-se interacţiunea actină-miozină. Troponina C este cea care fixează Ca^{2+} (patru ioni pe fiecare polipeptid Tc), realizându-se astfel schimbarea poziţiei tropomiozinei şi devenind posibilă interacţiunea actinei cu miozina. În momentul în care capul miozinei atinge actina, este eliberat ADP-ul şi fosfatul anorganic de la hidroliza precedentă, ceea ce determină o modificare conformaţională a capului miozinei cu încovoierea lui

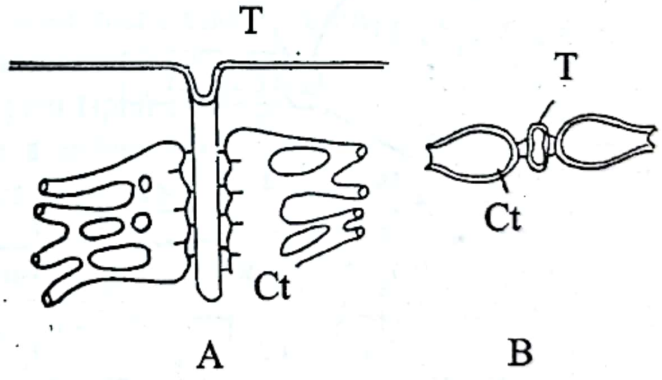


Fig. 3.15. ***Reticulul sarcoplasmic din rabdocit.*** Alcătuirea unei triade din două cisterne terminale (Ct) şi un tubul transvers (T). A.- vedere din faţă ; B.- secţiune transversală prin tubulul T. Se remarcă prezenţa de conexiuni între T şi Ct.

Scanned with OKEN Scanner

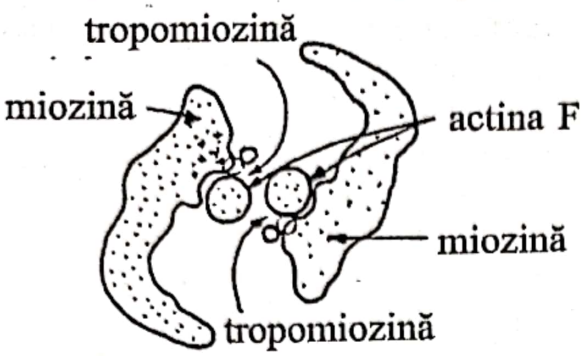


Fig. 3.16. ***Relaţiile actină-miozină-tropomiozină***

şi prin aceasta, miozina „trage" filamentul de actină.

Urmează apoi legarea de capul miozinei a unei molecule de ATP, ceea ce duce la desprinderea miozinei de actină. Miozina hidrolizează ATP în ADP şi fosfat anorganic şi astfel capul miozinei îşi recapătă conformaţia iniţială, după care ciclul se repetă.

Aceste mişcări de *„păşire"* a capetelor de miozină (din microfilamentele groase) în lungul microfilamentelor de actină subţiri, se produc individual pentru fiecare moleculă şi pentru fiecare din cele două capete ale miozinei (miozinele polimerizează prin cozi şi capetele rămân libere), aceasta făcând ca într-un muşchi în contracţie la un moment dat să avem unele capete de miozină ataşate de actină, iar altele, detaşate.

În concluzie, creşterea bruscă a concentraţiei de Ca^{2+} iniţiază contracţia miofibrilei. Ionul de Ca^{2+} este apoi recaptat în cisternele reticulului sarcoplasmic printr-o enzimă numită Ca^{2+}-ATP-aza (pompa de Ca^{2+}) ceea ce produce relaxarea muşchiului (fig. 3.17).

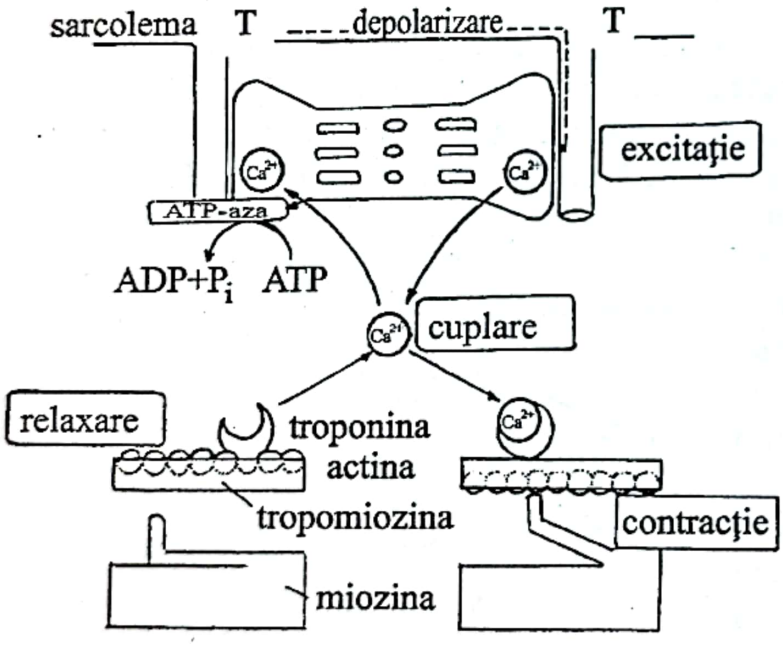
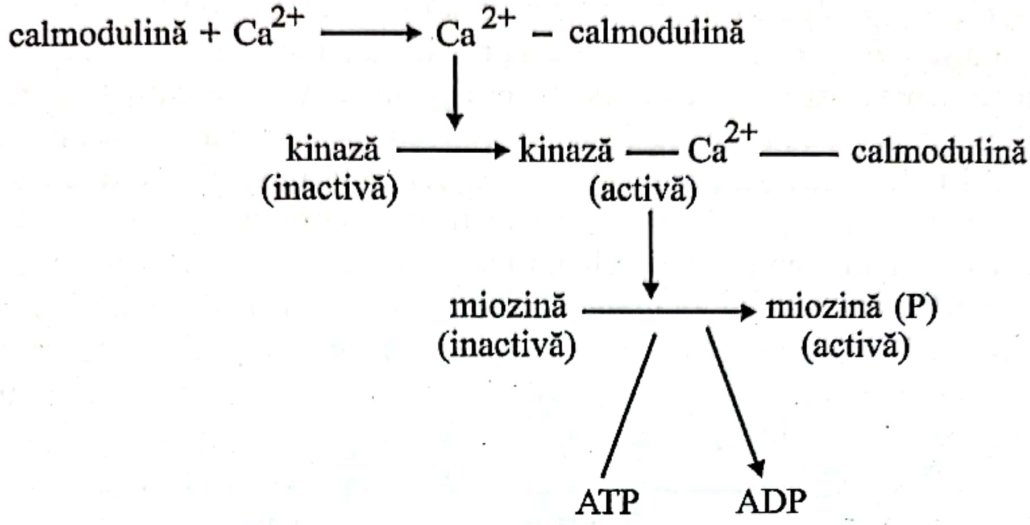


Fig. 3.17. ***Schema fenomenului de cuplare excitaţie-contracţie***

În *muşchiul cardiac,* aranjarea microfilamentelor de actină şi miozină este asemănătoare ca în muşchiul scheletic. *Muşchiul neted* se caracterizează prin faptul că miozina are activitate ATP-azică de zece ori mai mică faţă de cea a miozinei din muşchiul scheletic şi este mult mai direct reglată de ionul Ca^{2+}. Miozina din muşchiul neted poate interacţiona cu actina, numai dacă lanţurile sale uşoare sunt fosforilate. În situaţia în care lanţurile uşoare sunt defosforilate, miozina nu poate interacţiona cu actina şi muşchiul se relaxează. Enzima de fosforilare este *kinaza lanţurilor uşoare* ale miozinei, care este activată de complexul *Ca^{2+} - calmodulină*. Kinaza activată fosforilează miozina şi numai miozina cu lanţurile

Scanned with OKEN Scanner

uşoare fosforilate interacţionează cu actina. Astfel au loc o serie de reacţii care duc la activarea miozinei:



Kinaza miozinei poate fi activată de influxul Ca^{2+} prin excitarea sistemului nervos vegetativ, dar şi prin AMP-c, al cărui nivel în celulă este reglat de hormoni. Astfel se produce contracţia muşchiului neted (ex. *peristaltismul* intestinal) prin acţiune nervoasă sau hormonală.

Activarea miozinei prin sistemul calmodulinei este lentă şi la fel şi contracţia muşchiului neted este mai lentă. *Troponina C* poate fi considerată o formă specializată a *calmodulinei* în muşchiul striat, unde este necesară o contracţie rapidă.

Alte mişcări care au la bază sistemul actină-miozină sunt: mişcarea ameboidală, fenomenele de motilitate întâlnite la nivelul microvililor şi curenţii citoplasmatici.

Miozina din celulele nemusculare se aseamănă cu cea din muşchiul neted prin faptul că activarea ei (dobândirea capacităţii de a se lega de actină) depinde de fosforilarea lanţurilor uşoare, care la rândul ei este stimulată de sistemul Ca^{2+} - *calmodulină*. Fosforilarea induce asamblarea miozinei în agregate mici bipolare, formate din *10-20 molecule de miozină* (fig. 3.18). Aceste agregate mici de molecule de miozină, legate prin cozile lor pot realiza deplasarea unor microfilamente de actină, după mecanismul molecular al sistemului actină-miozină în celulele nemusculare. Contracţia actino-miozinei în celulele nemusculare produce trecerea citoplasmei în stare de gel, pe când relaxarea ei, produce trecerea în stare fluidă, în acest mod având loc mişcarea în citoplasma celulelor nemusculare *(curenţii citoplasmatici)*.

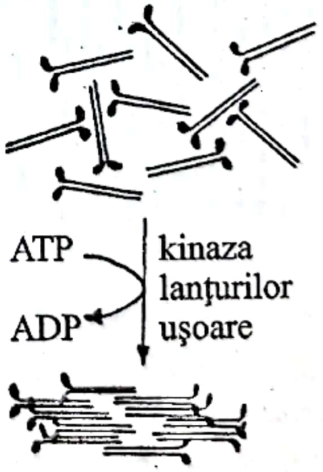


Fig. 3.18. ***Schema agregării miozinei în celulele nemusculare***

Mişcarea ameboidală este o formă de locomoţie întâlnită nu numai la protozoare (ex. clasic fiind *Amoeba proteus*) ci şi la metazoare. Astfel, prin acest mecanism, *leucocitele* prezintă fenomenul de *diapedeză* (*dia* = direcţie diferită; *podos* = picioruş) (părăsesc capilarele sanguine) şi se deplasează la locul infecţiei în organism şi *fibroblastele* se mobilizează pe suprafaţa plăgilor secretând colagen, cu rol în formarea cicatricii. Fibroblastul emite pe direcţia mişcării prelungiri lăţite, numite *lamelipode* care alcătuiesc o muchie de înaintare. Din lamelipode proemină nişte vârfuri ascuţite ca nişte ţepi sau lănci (fig. 3.19). Procesul de emitere a acestor prelungiri este continuu, unele prelungiri aderând la substrat pe faţa ventrală prin *plăci de adeziune,* în timp ce alte prelungiri se reîntorc spre corpul celulei, pe faţa dorsală, formând *ondulaţii de suprafaţă*. Citoplasma se răstoarnă şi trece în stare de gel prin contracţia actino-miozinei, astfel, restul celulei este tras pe direcţia prelungirii.

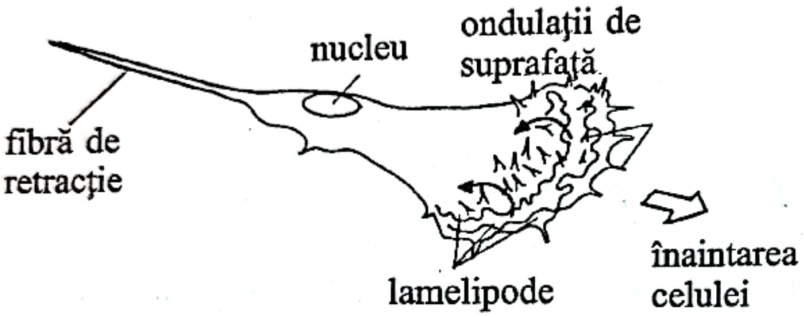


Fig. 3.19. ***Mişcarea ameboidală în cazul fibroblastului***

Adeseori, emiterea prelungirilor şi deplasarea celulei se face spre direcţia unui stimul chimic. Această mişcare direcţionată se numeşte *chemotactism.* Pe această bază se deplasează leucocitele spre locul infecţiei.

Mişcările din microvili

Microvilii sunt expansiuni permanente mici ale suprafeţei celulare cu funcţie de absorbţie : *enterocitele* cu *platou striat şi nefrocitele cu margine în perie* (vezi cap. 2.4). Polaritatea filamentelor de actină din microvil este analogă cu cea a microfilamentelor subţiri din sarcomer (fig. 3.20). Microvilii măresc suprafaţa de absorbţie a membranelor şi prin contracţia filamentelor de actină şi a celor de miozină, se realizează împingerea lor spre interiorul celulei.

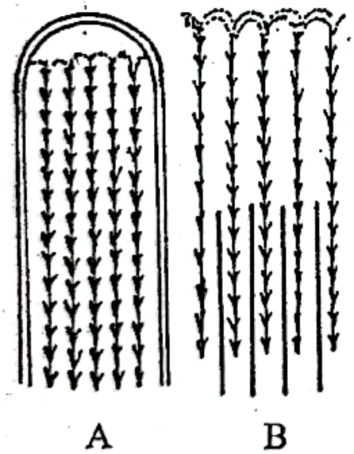


Fig. 3.20. ***Reprezentarea schematică a polarităţii microfilamentelor de actină în microvil (A) şi în sarcomerul din muşchi (B)***

Curenţii citoplasmatici reprezintă un fenomen biologic. Ei sunt mai intenşi în celulele cu o activitate metabolică mai mare. *Mişcarea saltatorie* a organitelor celulare se datoreşte sistemului motil actină-miozină, în care pe filamentele de actină, situate la periferia celulei se deplasează filamente de miozină care au legate pe ele organite celulare. Curenţii citoplasmatici sunt caracteristici celulei vii, ei dispar în momentul când celula moare.

Scanned with OKEN Scanner

3.4.3.2. Mişcări celulare având la bază sistemul motil microtubul-dineină

În expansiunile mai mari ale suprafeţei celulare cu caracter permanent, cum sunt cilii şi flagelii, baza structurii o formează microtubulii (vezi cap. 2.4). Cilii sunt prelungiri multiple pe suprafaţa unor celule cum sunt cele de pe mucoasa aparatului respirator sau din oviduct, pe când flagelul este unic la spermatozoid, singura celulă flagelată la mamifere. Cilii au mişcări ciclice în doi timpi *(bătaie-revenire)*, pe când flagelul, are o mişcare ondulatorie, sinusoidală, ori elicoidală (fig. 3.21). Fiecare ciclu bătaie-revenire durează 0,1-0,2 secunde.

Funcţia dineinei este similară cu a miozinei, aceea de a avea activitate ATP-azică. Dineina este compusă din mai multe polipeptide şi prin hidroliza ATP-ului, furnizează energia necesară mişcării. ATP-ul provine din glicoliză sau din mitocondrii şi difuzează prin citoplasmă în axonema cililor, pe când în flageli, ATP-ul este generat de mitocondriile ce înconjoară axonema. În timpul mişcării cililor şi flagelilor se produce alunecarea dubletelor, unul în raport cu celălalt şi în consecinţă, încovoierea axonemei (fig. 3.22). Această alunecare a dubletelor se face prin deplasarea punţilor laterale ce se stabilesc între dineină şi dubletul adiacent. La fel cum actina era deplasată prin desfacerea punţii de legătură cu miozina şi refacerea punţii cu actina din poziţia adiacentă, tot aşa în acest sistem se desfac şi se refac legăturile dineinei cu dubletul adiacent, se realizează în consecinţă glisarea dubletelor, unul faţă de celălalt.

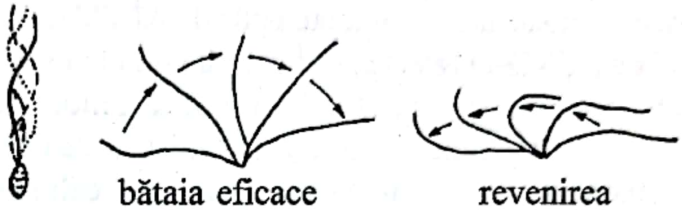


Fig. 3.21. ***Schema mişcării flagelului (A) şi a cililor (B)***

Spiţele şi *teaca internă* din axonema cilului au rolul de a controla activităţile braţelor de dineină, astfel ca acestea să producă o undă coerentă de mişcare a cilului. Aceste structuri reglează intrarea în acţiune a braţelor de dineină în mod coordonat, de la baza cilului spre vârf, convertind mişcarea de alunecare a dubletelor într-o mişcare de încovoiere a cilului.

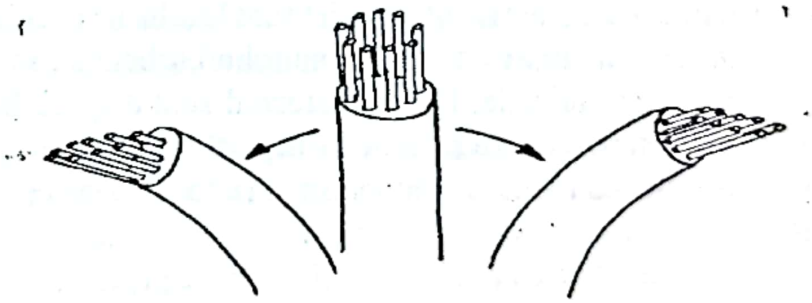


Fig. 3.22. ***Mecanismul încovoierii cilului sau flagelului prin glisarea dubletelor din axonemă***

Scanned with OKEN Scanner

3.5. Organite generatoare de energie – mitocondriile

Mitocondriile (gr. *mitochondrion* = filament, granulă) sunt organite specializate în producerea energiei necesare activităţii celulare eucariote, fiind adevărate „*centrale energetice*", în care energia eliberată prin oxidarea unor substrate este convertită în *energie chimică (ATP)* prin procesul de fosforilare oxidativă (sunt *fabricile de ATP* ale celulei). Ele sunt prezente în toate tipurile de celule, cu excepţia hematiei în care lipsesc. Enzimele *marker* pentru mitocondrii sunt: *monoaminooxidaza, citocromoxidaza* şi *enzimele ciclului Krebs*. Mitocondriile au fost evidenţiate la microscopul optic de ALTMAN (1890) prin coloraţia cu verde Janus-B şi de BENDA (1897) care a folosit coloraţia specifică cu hematoxilină ferică.

Forma şi dimensiunile mitocondriilor sunt variabile. În general, au formă alungită cu lungimea de 3 μm şi diametrul de 0,5-1 μm. În pancreas pot avea formă de filamente cu lungimea de 10 μm. În celulele vii observate la microscopul în contrast de fază, sau filmate, mitocondriile prezintă modificări continue ale formei, precum şi mişcări, fiind antrenate de curenţii citoplasmatici, după cum suferă şi fragmentări sau fuziuni. Adesea sunt aliniate pe microtubuli. Forma este dependentă de respiraţie şi fosforilare.

Numărul mitocondriilor este diferit de la o celulă la alta, depinzând de gradul de activitate al acestora. Cu cât o celulă este mai angajată funcţional, cu atât numărul de mitocondrii este mai mare. Hepatocitul poate avea 1000-3000 mitocondrii în citosol, nefrocitele - 300, spermatozoizii - 15-25, ce se dispun spiralat în jurul axonemei *piesei intermediare* a flagelului spermatozoidului. Hematiile sunt lipsite de mitocondrii. Celulele cu o activitate metabolică mai redusă au un număr mai mic de mitocondrii.

Poziţia mitocondriilor în celulă este diferită. Pot fi răspândite în întreg citosolul, în cazul hepatocitului. Ele sunt localizate în celulă, acolo unde este necesar ATP în cantitate mare. Astfel, în muşchiul scheletic, mitocondriile se află angajate regulat între miofibrile, în spermatozoid sunt dispuse helicoidal în jurul axonemei flagelului, în neuroni în regiunea sinaptică, în celula seroasă a pancreasului exocrin sunt asociate cu reticulul endoplasmic rugos la baza celulei, generând ATP necesar biosintezei proteinelor.

În celulele cu poli activi, ele se concentrează în jurul acestora : în *nefrocite*, organitele se localizează la polul bazal al celulei, în enterocite se aglomerează la polul absorbant (apical) şi bazal (fig. 3.23). Mitocondriile îşi schimbă mereu poziţia în citosol şi se pot alătura temporar unor organite aflate în intensă activitate, în special reticulul endoplasmic. Ele mai pot apărea concentrate perinuclear în momentele de intensă activitate de sinteză în celulă. După ce activitatea acestor formaţiuni scade, mitocondriile se răspândesc în citosol.

Scanned with OKEN Scanner

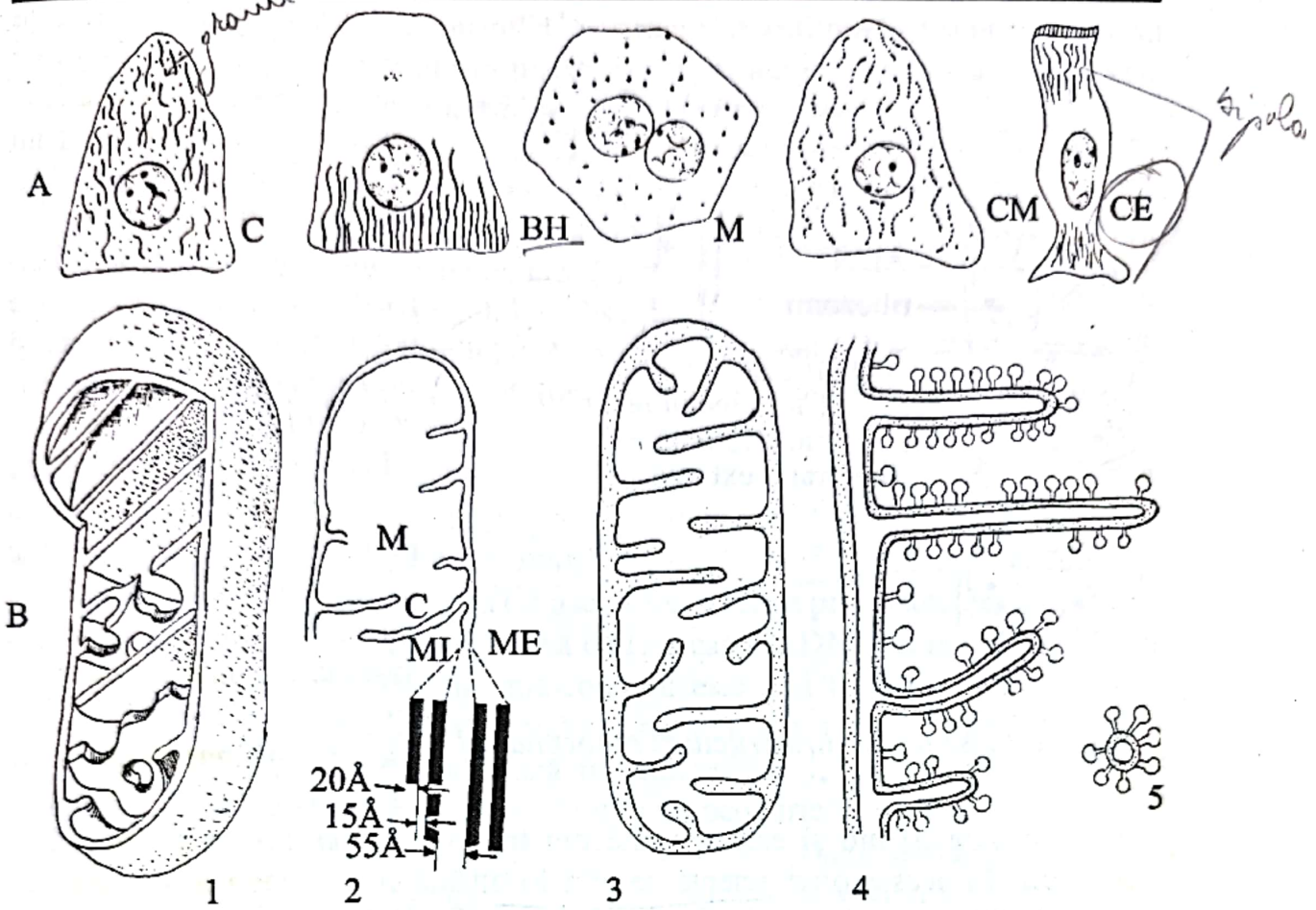


Fig. 3.23. ***Mitocondriile.*** A-mitocondriile la MO : C-condrioconte ; BH-bastonaşe Heidenhein ; M-mitocondrii ; CM-condriomite ; CE-condrioconte localizate bipolar în enterocit. B-mitocondrii la ME ; 1-model de mitocondrie ; 2-structura mitocondriei (ME-membrana externă ; MI-membrana internă ; C-criste ; M-matricea). 3-aspecte diferite de criste ; 4-particulele elementare ale membranei interne ; 5-secţiune transversală printr-o cristă şi modul de dispunere al particulelor elementare

În 1952, PALADE şi SJÖSTRAND (independent) au elucidat ultrastructura mitocondriei pe secţiuni din ficat (fig. 3.24).

Mitocondria este structurată din două membrane cu grosimea fiecare de 6 nm, ce delimitează două compartimente. *Membrana externă* este netedă, în timp ce *membrana internă*, ce urmăreşte în general conturul membranei externe prezintă din loc în loc pliuri sau invaginări, numite *criste mitocondriale* (lat. *crista* = creastă, margine) cu grosimea de 25 nm şi de forme variate. Fiecare din membranele mitocondriale au structura obişnuită a membranei „unit", adică lipidele lor polare sunt aşezate în bistrat. Cele două compartimente sunt : *extern* de 7-8 nm între cele două membrane şi *intern* sau *matricea mitocondrială*. Numărul, dispoziţia şi dimensiunea cristelor variază în raport cu tipul, activitatea metabolică şi necesităţile energetice ale celulei. Cu cât activitatea celulelor este mai intensă, cu atât numărul cristelor este mai mare.

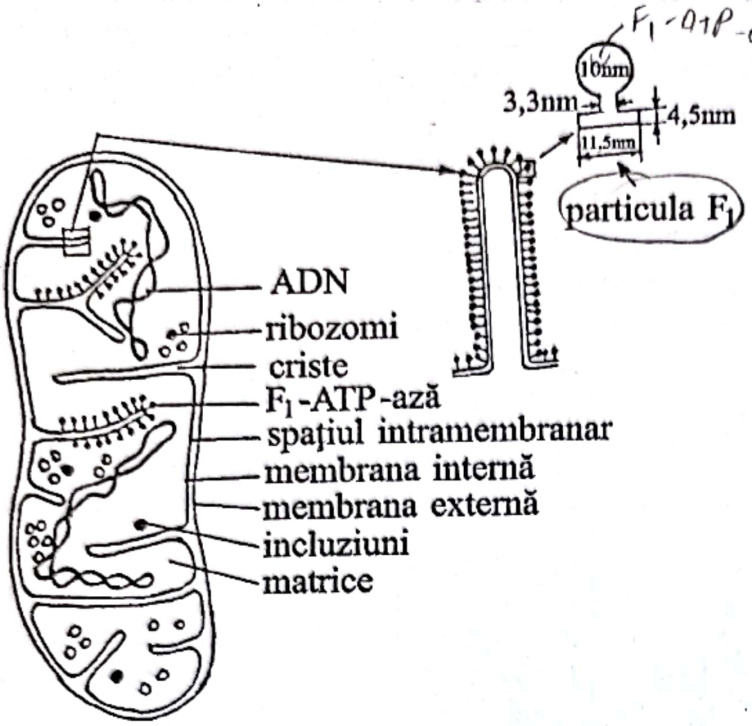


Fig. 3.24. *Schema ultrastructurii mitocondriei*

După forma lor, cristele mitocondriale pot fi *lamelare* sau *septate* (sub formă de foiţă sau septuri) şi *tubulare* (sub formă de cilindri) (fig. 3.25). Cristele pot fi orientate perpendicular sau paralel cu axul longitudinal al organitului. Cristele pot fi rectilinii, ramificate şi încrucişate în reţea, compartimentând matricea.

Prin coloraţie negativă cu acid fosfotungstic se obţin preparate cu contrast mare şi la microscopul electronic se remarcă la nivelul membranei interne subunităţi de membrane, denumite *particule elementare (particule F_1)*. O astfel de particulă apare ca o proeminenţă de 10 nm şi este formată din trei piese: *bazală, intermediară* şi *superioară*. În aceste proeminenţe se află localizată F_1 – ATP-ază, o parte din complexul ce sintetizează ATP-ul.

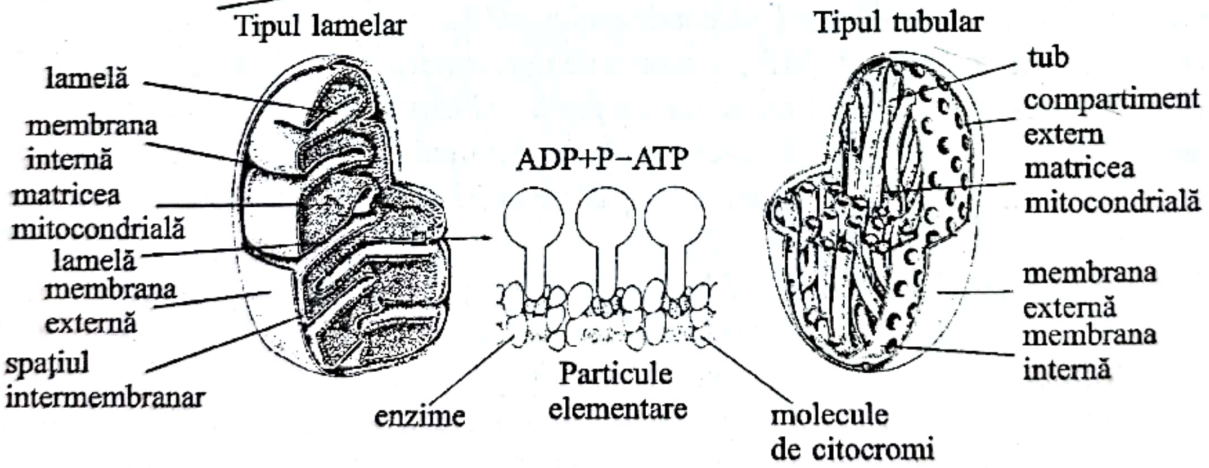


Fig. 3.25. *Criste lamelare şi tubulare în mitocondrii (Liebich, 1999)*

Membrana internă mitocondrială este mai puţin permeabilă ca cea externă, constituind o barieră între matricea mitocondrială şi restul organitului. Prin membrana internă trec spre spaţiul intern Ca^{2+} şi Mg^{2+}, necesari desfăşurării activităţii enzimelor cuprinse în matricea mitocondrială. De asemenea, trec moleculele de ADP şi ATP, necesare desfăşurării procesului de fosforilare activă, acizii graşi şi

Scanned with OKEN Scanner

unii aminoacizi cum ar fi glutamatul şi aspartatul. Aceşti produşi sunt transportaţi prin membrana internă cu ajutorul unor proteine aflate în membrană care servesc drept *transportori sau cărăuşi (translocazele* şi *permeazele).*

Matricea mitocondrială conţine : *enzime, vitamine* (complexul B, A şi C), *acizi nucleici* (ADN şi ARN), *ioni* (K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}) şi *granule de glicogen, lipide, riboproteine (ribozomi).*

Enzimele aparţin la următoarele sisteme :

- sistemul enzimatic al ciclului Krebs ;
- sistemul enzimatic al lanţului de transfer de electroni (oxidarea acizilor graşi) ;
- sistemul enzimatic de fosforilare oxidativă, enzime care intervin în sinteze specifice ;
- enzime proteolitice.

Acizii nucleici mitocondriali se prezintă sub formă de *ARN-mit (ARN ribozomal, ARN mesager, ARN de transfer)* şi de *ADN-mit.* Molecula de ADN are lungimea de 20 μm şi este circulară (se aseamănă cu cea a procariotelor). Replicarea moleculei de ADN-mit nu este sincronă cu replicarea ADN-ului nuclear şi nici nu este continuă. Sinteza ADN-ului mitocondrial este mai lentă decât a ADN-ului nuclear şi independentă de acesta. Evidenţierea în matricea mitocondrială a *ADN-polimerazei*, enzimă care catalizează biosinteza ADN, sugerează că ADN-ul mitocondrial este biosintetizat independent în mitocondrie.

Ribozomii mitocondriali au diametrul de *15 nm* şi sunt asemănători celor de la procariote, de tip *70 S*, cu cele două subunităţi : mică 30 S şi mare 50 S (constantă de sedimentare măsurată în unităţi *Svedberg*).

Existenţa în mitocondrie a unui aparat genetic propriu (ADN), ca şi a unor ribozomi proprii ca sediu al biosintezei proteinelor, demonstrează că mitocondria posedă sistemul biochimic necesar pentru a transcrie programul (informaţia) genetic *(ADN ⟶ ARN)*, pentru a replica acest program *(ADN ⟶ ADN)* şi pentru a-l traduce *(ARN ⟶ proteine)*.

Mitocondria este sediul metabolismului celular *aerob* (oxigen dependent) care include cele trei procese biochimice cruciale : *ciclul Krebs (ciclul acidului citric) ; oxidarea acizilor graşi* şi *fosforilarea oxidativă*. Prin aceste procese, în mitocondrie se generează practic întreaga cantitate de energie (ATP) necesară creşterii, funcţionării şi viabilităţii celulei. Din acest motiv, mitocondriile sunt considerate ca adevărate *„centrale energetice"* ale celulei. Fără mitocondrii celulele animale ar depinde de glicoliza anaerobă, prin care fiecare moleculă de glucoză generează *două molecule de ATP.* În schimb, dacă metabolismul glucozei este completat în mitocondrie până la oxidarea completă la CO_2 şi H_2O, fiecare moleculă de glucoză produce *36 molecule de ATP.* Prin hidroliza ATP se eliberează o cantitate importantă de energie *(8000-10000 Kcal/mol)* necesară proceselor metabolice.

Pentru a asigura un aport continuu de *acizi graşi*, respectiv de piruvat, celulele dispun de depozite de lipide *(trigliceride)* în ţesutul adipos şi glucide *(glicogen),*

Scanned with OKEN Scanner

mai ales în ficat şi muşchi. Grăsimile generează de 6 ori mai multă energie, decât o masă egală de glicogen hidratat.

Efectuarea proceselor biochimice specifice mitocondriilor este posibilă datorită existenţei unui mozaic complex de enzime, localizate în diferite compartimente ale structurii mitocondriale: *membrana externă; membrana internă cu criste* şi *particule elementare; compartimentul extern* (spaţiul intermembranar) şi *compartimentul intern* (matricea mitocondrială).

Enzimele care intervin în ciclul Krebs şi în betaoxidarea acizilor graşi sunt localizate în membrana externă şi în matricea mitocondriilor, iar enzimele şi alţi factori care participă la procesul de fosforilare oxidativă (generare de ATP) sunt localizate în membrana internă, respectiv în criste. În particulele elementare ale membranei interne se află localizată enzima denumită *factorul de cuplare* F_1, care posedă activitate ATP-azică, şi care catalizează ultima etapă a formării ATP-ului: ADP $\rightleftarrows$ ATP. Procesele metabolice localizate în mitocondrii pot fi încadrate în două mari clase: cele aparţinând *metabolismului energetic* şi cele *biosintetice.*

Toate enzimele implicate în lanţul respirator, respectiv în sistemul transportor de *hidrogen* şi de *electroni* (*succinat dehidrogenaza, flavoenzimele, citocromii*) sunt localizate în membrana internă şi sunt cuplate cu complexul F_1 (fig. 3.26), determinând astfel realizarea procesului de fosforilare oxidativă prin care se generează ATP. Astfel se realizează procesele metabolismului energetic.

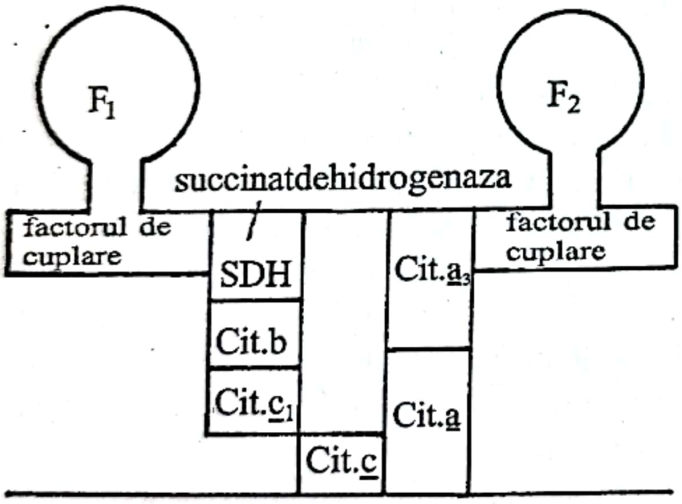


Fig. 3.26. ***Organizarea particulelor F_1 din membrana mitocondrială internă şi a enzimelor localizate pe ele***

Procesele biosintetice: mitocondriile conţin *ADN, ARN, ribozomi* şi toate *enzimele* exprimării genelor mitocondriale. În mitocondrii se desfăşoară unele etape din sinteza *hemului din hemoglobină* şi a *hormonilor steroizi* (celulele corticosuprarenale şi celulele interstiţiale din ovar şi testicul). Mitocondriile sunt deci organite celulare, la nivelul cărora se generează energia necesară desfăşurării oricărei activităţi celulare (diviziune, diferenţiere, secreţie, contracţie musculară, transmitere nervoasă etc.).

Prin acţiunea enzimelor oxidoreductive şi prin procesul fosforilării oxidative, ce se desfăşoară în mitocondrii, iau naştere molecule de ATP (macroergice). Acestea, sub acţiunea ATP-azei sunt scindate cu eliberare de energie ce serveşte la desfăşurarea proceselor vitale celulare. În cursul desfăşurării reacţiilor enzimatice

oxidative şi ale cuplării oxidării cu fosforilarea, mitocondria suferă modificări structurale ce sunt incluse în *ciclul fiziologic de umflare-contracţie* (fig. 3.27).

Acest ciclu are loc mai mult pe seama membranei mitocondriale interne, cea externă rămânând nemodificată. Mitocondria, de la forma obişnuită, prin intervenţia proteinelor contractile pe care le conţine, se transformă în stare condensată sau *stare de contracţie* (volumul organitului se reduce mult, spaţiul extern se şterge, cristele mitocondriale se tasează). *În starea de umflare* sau de *balonizare*, organitul acumulează o cantitate sporită de apă, volumul lui se măreşte considerabil, cristele mitocondriale se şterg, iar cele două membrane se alătură. Aceste procese sunt fiziologice şi reversibile. În cursul desfăşurării activităţii mitocondriei, au loc frecvente repetări ale ciclului de umflare-contracţie.

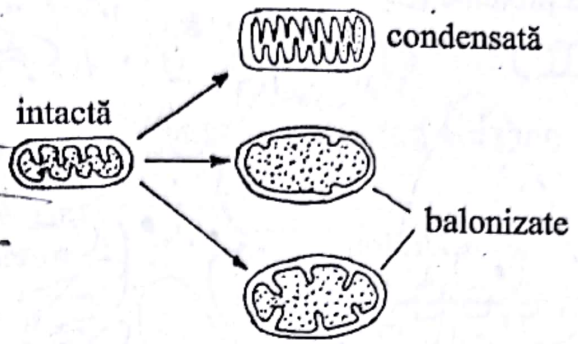


Fig. 3.27. ***Ciclul fiziologic de umflare-contracţie al mitocondriei***

3.6. Organitele sintezei şi secreţiei celulare

3.6.1. Ribozomii

Ribozomii (gr. *ribosoma* = *ribo* = riboproteine; *soma* = corp; corpi purtători de proteine) sau *granulele lui Palade* sunt prezenţi în toate celulele animale cu excepţia hematiei. Pot fi *liberi* în citoplasmă, *izolaţi* sau grupaţi în *poliribozomi* şi ataşaţi de membranele reticulului endoplasmic, structurând *reticulul endoplasmic granular* (fig. 3.28). Mai pot fi ataşaţi pe faţa externă a nucleolemei (membrana nucleară). În celulele care sintetizează proteine de export (celulele acinilor seroşi, limfocit şi plasmocit), numărul ribozomilor este mare, fiind ataşaţi reticulului endoplasmic granular. În alte celule, care nu sintetizează proteine de export, ci elaborează hormoni steroizi, ribozomii sunt liberi în citoplasmă, într-un număr mic (celulele glandelor suprarenale şi glandele endocrine din gonade).

La microscopul electronic sunt granule sferice sau ovalare de *15-30 nm*, cărora nu li se pot distinge detalii de structură. Ei sunt formaţi din două *subunităţi inegale (mare şi mică)* (fig. 3.29), asimetrice, cu morfologie, compoziţie chimică şi coeficient de sedimentare caracteristice. Ribozomii de la *procariote* şi cei de la eucariote localizaţi în *mitocondrii* sunt asemănători, fiind de tipul *70 S* (constanta de sedimentare măsurată în unităţi Svedberg), cu *subunitatea mică* de *30 S* şi *subunitatea mare* de *50 S*. În schimb, ribozomii din citoplasma celulelor eucariote sunt mai mari, de *80 S*, fiind formaţi dintr-o *subunitate mare* de *60 S* şi una *mică* de

Scanned with OKEN Scanner

40 S. În cazul ribozomilor eucariotici *subunitatea mare* 60 S, conţine trei specii de ARN (5, 8 S, 28 S şi 5 S) şi 45 proteine, iar *subunitatea mică* 40 S conţine ARN 18 S şi 33 proteine (fig. 3.30).

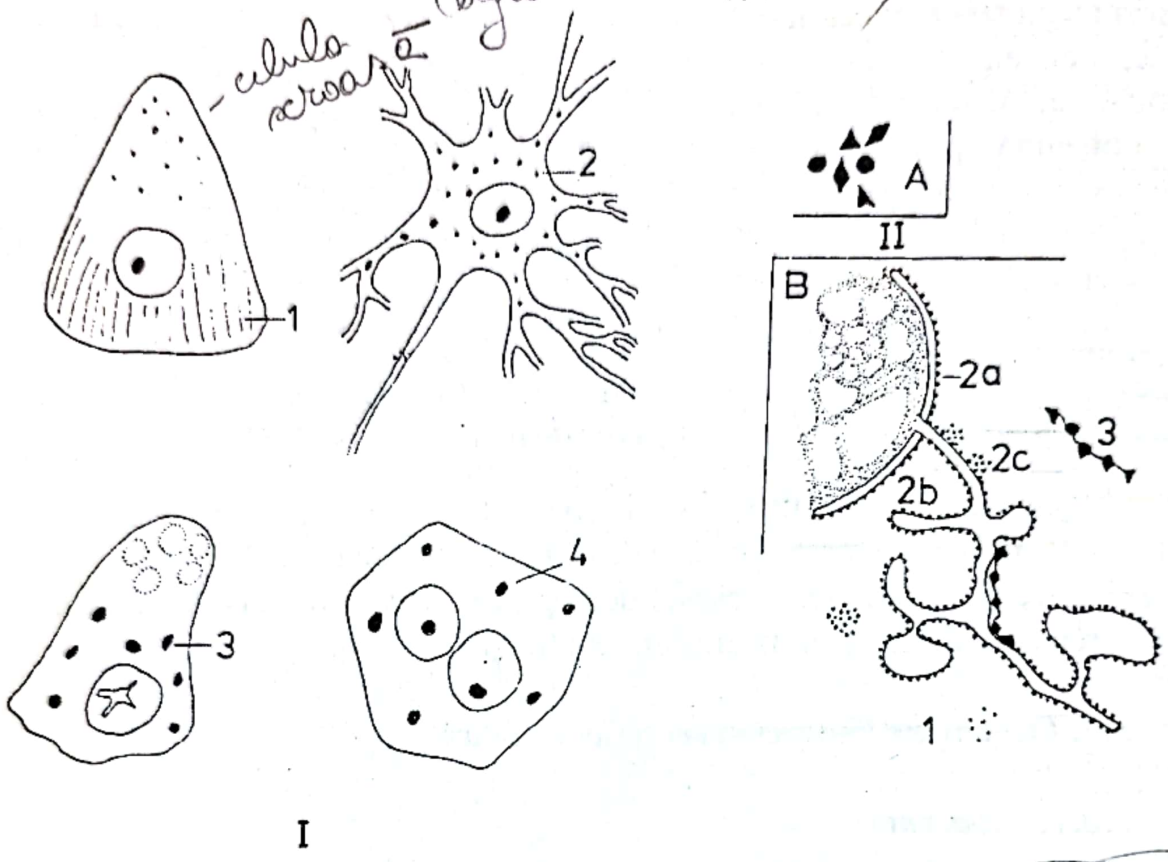


Fig. 3.28. *Ribozomii*. I – La MO aglomerări de material bazofil : 1.-ergastoplasma ; 2.-corpii Nissl ; 3.-suprafeţe bazofile în citoplasma celulelor alveolelor glandulare mamare ; 4.-enclave Berg în hepatocite. II.-La ME : A- formele (romboidale, ovalare, triunghiulare). B.- trei tipuri de localizare : 1- ribozomi liberi ; 2- ribozomi ataşaţi (2a) pe faţa externă a membranei nucleare, (2b) pe pereţii reticulului endoplasmic în monom, (2c) pe pereţii reticulului endoplasmic în rozetă ; 3- poliribozomi

Subunitatea mare posedă o adâncitură în formă de şa, în care se află subunitatea mică, alungită şi reniformă. Cele două subunităţi se separă ducând la disocierea granulei ribozomale, atunci când în citoplasmă, concentraţia ionilor de Mg^{2+} scade sub 10^{-3} sau în situaţia prezenţei în celulă a unor inhibitori ai sintezei de proteine ca *puromicina* sau *etionina*. Creşterea concentraţiei ionilor de Mg^{2+} peste 10^{-3} în citoplasmă, determină agregarea ribozomilor în grupuri denumite *polimeri (di-, tri-, tetra-,* etc.), care nu au funcţie specială în celulă. Revenirea la normal a concentraţiei ionilor de Mg^{2+} în citoplasmă, are drept rezultat desfacerea polimerilor şi individualizarea ribozomilor.

În cursul proceselor de biosinteză a proteinelor, ribozomii se ataşează la câte o moleculă de ARN_m , formând *poliribozomul (polizomul)* (fig. 3.31). Şanţul

dintre cele două subunităţi ale ribozomului reprezintă locul unde se deplasează ARN_m al cărui mesaj este introdus în secvenţa de aminoacizi a proteinelor ce se sintetizează. Numărul de ribozomi grupaţi depinde de mărimea moleculei proteice ce urmează a fi sintetizată (ex. *100 ribozomi* pentru molecula de *colagen*, *5 ribozomi* pentru molecula de *globină* din hemoglobină). Ribozomii în acest caz formează lanţuri sinuoase, iar molecula de ARN_m care îi uneşte are forma unui filament gros de *2 nm.* ARN_m înşiră ribozomii ca *„mărgelele pe aţă”*, trecând prin fiecare granulă ribozomală, între subunitatea mică şi cea mare. După ce proteina a fost sintetizată, lanţul poliribozomal se rupe, ARN_m ce trece de la un ribozom la altul se desface, iar ribozomii se dispersează în citoplasmă.

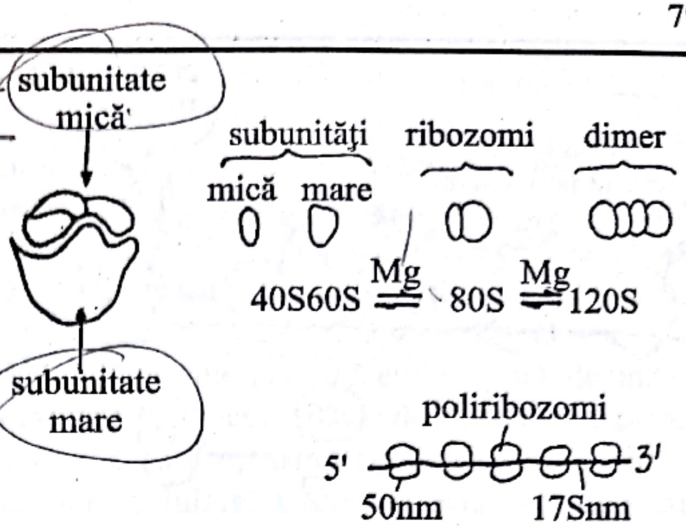


Fig. 3.29. ***Schema subunităţilor ribozomale, a polimerilor şi a poliribozomilor***

Organizarea chimică. Ribozomii conţin ARN_r şi proteine (ambele în părţi aproximativ egale), cantităţi mici de apă, diferiţi ioni metalici (Ca^{2+}, Mg^{2+}).

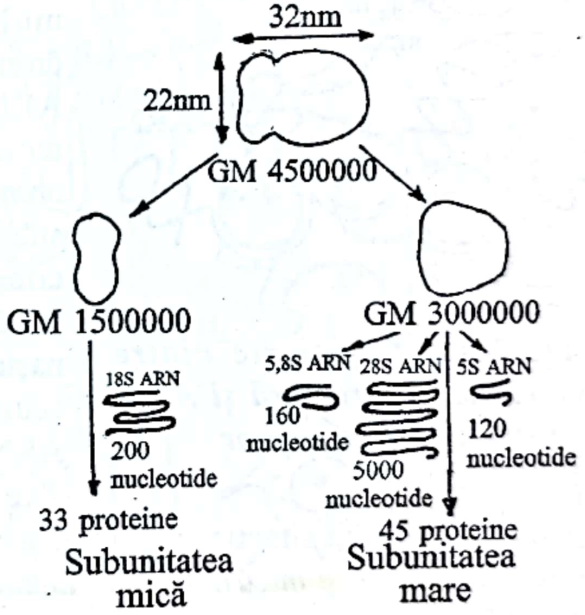


Fig. 3.30. ***Schema ribozomului la eucariote***

Molecula de ARN_r apare uşor spiralată, prezentând alternant segmente monocatenare nespiralate, dispuse în interiorul subunităţilor unde sunt situate şi proteinele ribozomale (fig. 3.32). Segmentele bicatenare helicoidale ale moleculei de ARN_r sunt dispuse la suprafaţa subunităţilor ribozomale. Datorită prezenţei ARN_r, ribozomii sunt responsabili de bazofilia celulei. ARN_r se găseşte în ambele subunităţi ale ribozomului (vezi fig. 3.30), sub formă de ARN_r 18 S în subunitatea mică şi ARN_r 5,8 S, 28 S şi 5 S în subunitatea mare. Moleculele de ARN_r conţin baze asimetrice : *baze purinice (guanina şi adenina* cele mai abundente) şi *baze pirimidinice (uracil şi citozină).*

Scanned with OKEN Scanner

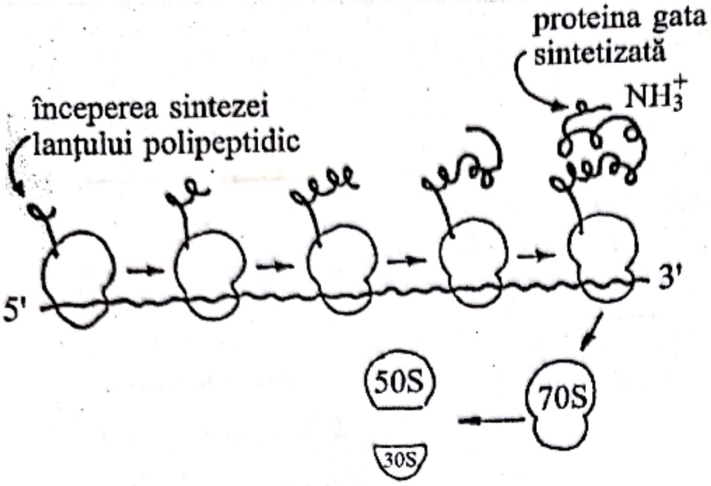


Fig. 3.31. ***Diagrama polizomului la procariote***

Proteinele ribozomale sunt mai strâns sau mai lax legate de ARN. Unele joacă un rol structural, altele intervin în asamblarea subunităţilor ribozomale sau au funcţii specifice în ribozomi. Din ribozomi au fost izolate peste 50 tipuri de proteine ribozomale bogate în reziduuri bazice de tipul *argininei* şi *lizinei*.

Biogeneza ribozomilor

Asamblarea ribozomilor începe în *nucleol*, unde are loc transcrierea ARN_r pe genele pentru ARN_r. Aceste gene există în cazuri multiple pe o anumită porţiune a cromozomului, numit *organizator nucleolar*. ARN_r sintetizează în nucleol la nivelul moleculelor de ADN nucleolar din *pars cromosoma* (*cromatina asociată nucleolului*), sub forma unui ARN_r precursor, ce are constanta de sedimentare 45 S. Acesta, localizat în *pars granulosa* din nucleol, dă naştere dintr-o porţiune a lui la două molecule ARN_r *28 S* şi *18 S*. Din cealaltă parte a ARN-*45 S*, iau naştere ARN_r *5 S* şi *5,8 S*. Aceste specii de ARN se asociază cu proteinele (care sunt sintetizate în citoplasmă) şi formează cele două subunităţi ale ribozomului (*mare* şi *mică*). Trecute în citoplasmă prin porii membranei nucleare, cele două subunităţi, încă imature, se maturizează foarte repede, se asamblează şi asociază proteine citoplasmatice specifice ribozomului, structurând în final ribozomii.

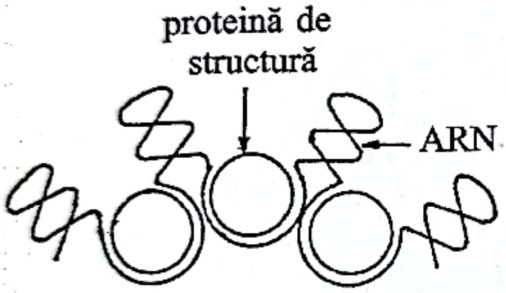


Fig. 3.32. ***Legăturile dintre proteinele de structură şi ARN_r din structura ribozomilor***

Funcţiile ribozomilor constau în sinteza de proteine. La nivelul ribozomilor ataşaţi membranelor reticulului endoplasmic rugos în celulele seroase din pancreas, limfocite, plasmocite, fibroblaste, se sintetizează proteine de export (enzime, hormoni, anticorpi, tropocolagen).

În poliribozomii neataşaţi membranelor reticulului endoplasmic se sintetizează proteinele de structură (proteine ce se consumă în special în diviziune şi creştere sau proteine de înlocuire ale organitelor uzate din celule), precum şi unele proteine speciale (proteine contractile şi proteinele din hemoglobină).

Scanned with OKEN Scanner

3.6.2. *Reticulul endoplasmic*

Reticulul (lat. *reticulum* = reţea) *endoplasmic* este evidenţiat la microscopul electronic în toate celulele, cu excepţia hematiei. Acest organit este o reţea formată din saci, cisterne, tubi şi vezicule cu diametrul de 25-50 nm, delimitate de o membrană de *6 nm* şi care se extinde în toată citoplasma între nucleu şi plasmalemă. Acesta formează în jurul nucleului *cisterna perinucleară (15-30 nm).* Întinderea sa se limitează la partea internă, mai fluidă a citoplasmei, numită *endoplasmă,* de unde şi numele de reticul endoplasmic. El rămâne de obicei separat de plasmalemă printr-un strat subţire al citoplasmei, desemnat ca exoplasma ce conţine infrastructuri fibrilare ale citoscheletului membranei celulare. Contactul sau continuitatea membranei reticulului endoplasmic cu plasmalema este extrem de rar şi poate fi chiar considerat accidental (artefacte datorită preparării).

Reticulul endoplasmic este de două tipuri: *reticulul endoplasmic rugos* şi *reticulul endoplasmic neted* (fig. 3.33).

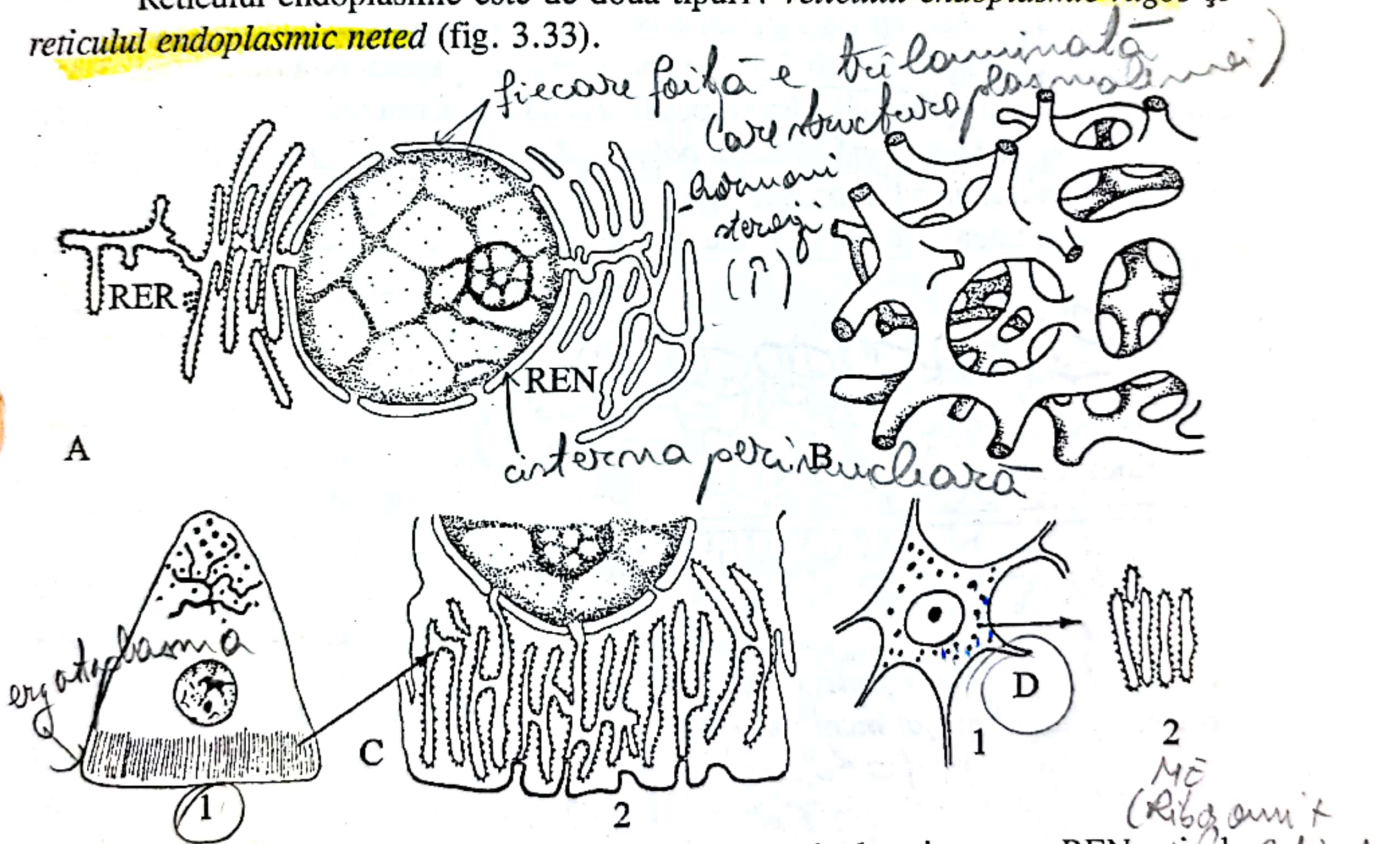


Fig. 3.33. ***Reticulul endoplasmic***: A.-RER-reticul endoplasmic rugos, REN-reticul endoplasmic neted; B.- modelul de organizare tridimensională a REN; C.- celula seroasă din pancreas; 1.- ergastoplasma la MO; 2.- RER la ME; D.- corpii Nissl: 1.- la MO; 2.- la ME.

Reticulul endoplasmic rugos prezintă pe suprafaţa externă a membranei ribozomi ataşaţi, izolaţi sau în grupuri active poliribozomale. În microscopia optică a fost evidenţiat de către Solger (1897) care i-a dat denumirea de ergastoplasmă

(grec. *ergasteil* = a elabora), sub forma unor lame paralele, puternic bazofile dispuse în citoplasma bazală a acinilor seroşi. În celulele nervoase, ergastoplasma ia aspectul de granule, bastonaşe, blocuri, formaţiuni cărora li s-a dat denumirea de *corpi tigroizi* sau *corpii Nissl*, iar în hepatocite formează suprafeţe bazofile numite *corpii Berg*. La ME, aspectul morfologic al ergastoplasmei este de *tubuli* paraleli (canalicule), cu diametrul de 5-15 nm, pe care sunt ataşaţi ribozomii de 15-30 nm, grupaţi, formând poliribozomii. Tubulii sunt separaţi de obicei prin spaţii de 15-35 nm. Ribozomii sunt ataşaţi de membrana reticulului prin subunitatea mare 60 S (fig. 3.34), pe când cea mică (40 S) rămâne liberă, rezultând aspectul de *„om de zăpadă"*. Capacitatea ribozomului de a se lega de membranele RE este dependentă de existenţa în aceste membrane a unor glicoproteine transmembranare, numite *riboforine (riboforina I şi riboforina II)*. Oricare din ribozomii 80 S pot să se lege de membrana RE rugos, iar această legare se face sub forma poliribozomului. Decisivă pentru legare este prima parte a lanţului polipeptidic *nascent*, care începe să se formeze în citosol, când ribozomul s-a legat de ARN-m şi a început elongarea. Acest prim segment al lanţului polipeptidic poartă numele de *semnal de inserţie* şi constă din primii *18-30 aminoacizi* de la capătul N-terminal (fig. 3.35). Deci, legarea poliribozomului devine posibilă când asemenea secvenţe semnal *„ies din ribozomi", ceea ce înseamnă că lanţul polipeptidic are deja 50-70 resturi de aminoacizi (30-40 fiind în interiorul ribozomului)*.

Subunitatea mare a ribozomului este străbătută de un canal ce se deschide în lumenul reticulului, prin care lanţurile polipeptidice ce se formează pe ribozomi, sunt antrenate în cisternele RE rugos. Acesta este mai dezvoltat în celulele cu sinteze proteice intense (celulele acinilor seroşi, plasmocitele, unele celule ale glandelor endocrine elaboratoare de hormoni polipeptidici şi glicoprotidici), (fig. 3.36).

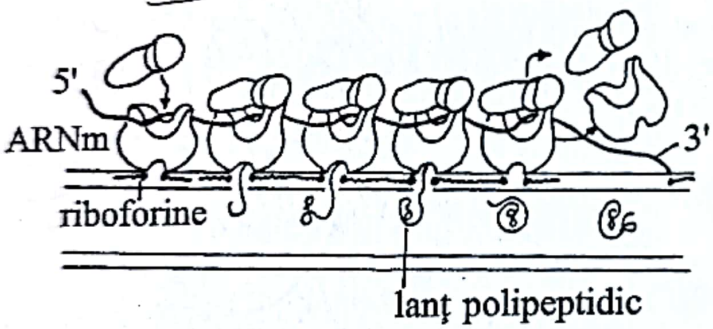


Fig. 3.34. ***Diagrama sintezei proteinelor de către polizomul ataşat membranei RE rugos***

Reticulul endoplasmic neted nu prezintă ribozomi pe membrana sa delimitantă. El poate comunica prin canale de legătură cu RER. Reticulul endoplasmic neted este alcătuit mai mult din formaţiuni tubulare cu un diametru de 30 nm şi este dezvoltat în celulele care sintetizează *hormonii steroizi* (glandele suprarenale, celulele interstiţiale din ovar şi testicul). Mai poate fi prezent în celulele care elaborează *glicogen* în cantitate mare (*hepatocite, celule musculare*), în celulele care formează pigment (*melanoblaste*), în celulele elaboratoare de HCl (*parietale* din glandele stomacului). Un aspect particular, morfologic şi funcţional al RE neted se remarcă în celula musculară, unde ia şi denumirea de *reticul sarcoplasmic*, cu rol în cuplarea excitaţiei cu contracţia.

Scanned with OKEN Scanner

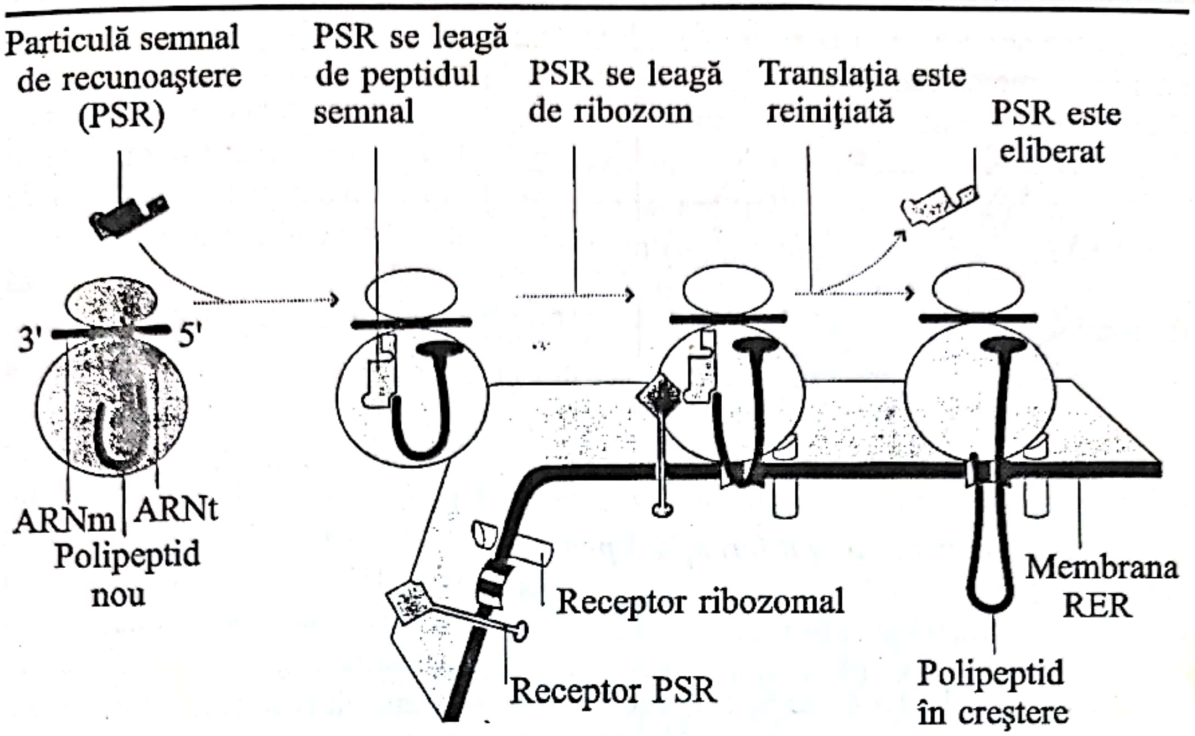


Fig. 3.35. ***Legarea ribozomului de ARN$_m$ şi formarea lanţului polipeptidic nascent*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

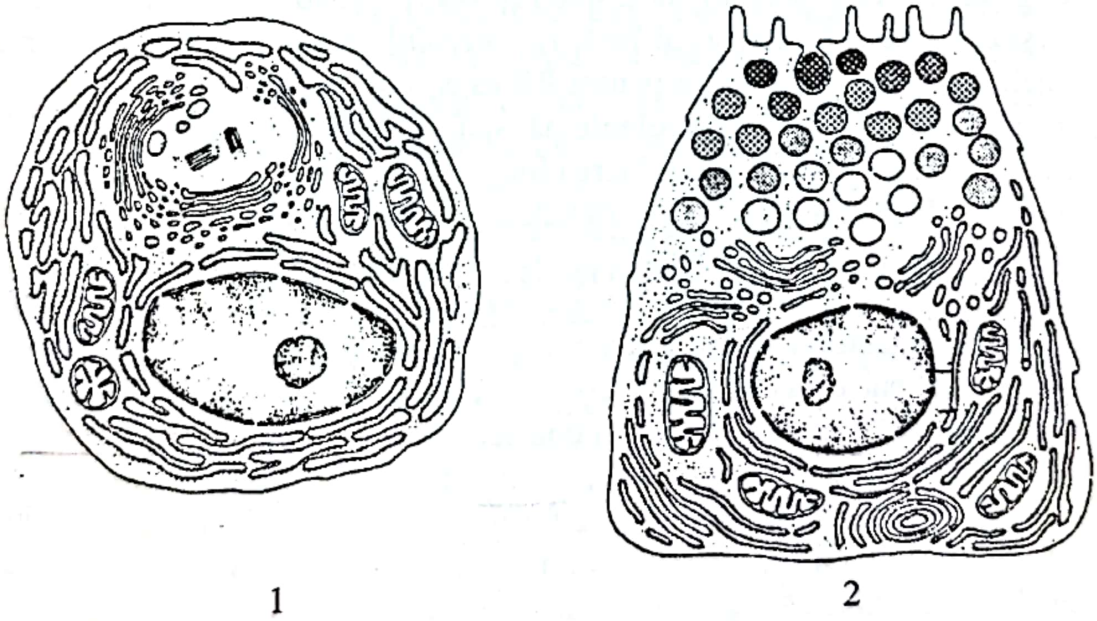


Fig. 3.36. ***Celule la ME ce elaborează proteine de export*****:** 1. plasmocitul ce secretă imunoglobuline ; 2. celula seroasă a acinilor seroşi din pancreasul exocrin ce elaborează enzime (granule de zimogen la polul apical), *(Junqueira şi colab., 1998)*

Scanned with OKEN Scanner

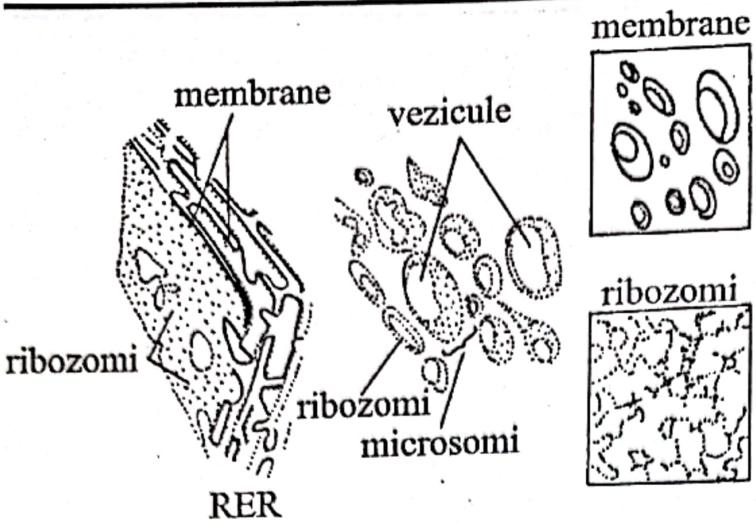


Fig. 3. 37. ***Centrifugarea diferenţiată pentru obţinerea detaşării ribozomilor de membrane***

Prin centrifugarea diferenţială a omogenatului celular s-a obţinut fragmentarea endomembranelor RE rugos în *microsomi* şi apoi detaşarea ribozomilor de membrane (fig.3.37).

În microsomi se păstrează orientarea membranei RE din celulă, faţa externă a microsomilor corespunde la faţa citoplasmatică a RE, iar conţinutul este identic cu cel din lumenul RE. În acest mod s-au apreciat compoziţia chimică şi funcţiile RE. Deci, microsomii nu sunt organite celulare, ci fracţiunea subcelulară, obţinută prin centrifugarea omogenatului celular, ce corespunde RE. Se pot obţine separat microsomi rugoşi şi netezi, după cum se pot şi desprinde ribozomii de membrana RE rugos.

Compoziţia chimică a RE constă din 60% proteine (structurale, protein-enzime şi hormoni), din care o parte sunt incluse în structurile organitului, iar altele reprezintă proteinele de export. Lipidele sunt în proporţie de 40 %, în ele predominând lecitinele şi cefalinele. În RE neted însă, *colesterolul* apare de două ori mai mult decât în cel rugos. Enzima marker pentru RE este *glucozo-6-fosfataza*.

Originea RE este din nucleolemă sau din sinteza macromoleculelor caracteristice din membrane şi asamblarea lor.

Funcţiile. RE rugos şi neted prezintă funcţii comune, precum şi funcţii diferenţiate.

Funcţii comune

RE formează un vast sistem microcirculator intracitoplasmatic, care vehiculează în permanenţă substanţe în toată citoplasma, precum şi în alte structuri (complexul Golgi, cisterna perinucleară cu care RE comunică).

RE are şi rol mecanic, putând fi considerat suportul intracitoplasmatic atât pentru celelalte organite cât şi pentru menţinerea formei celulei.

RE permite *schimburi active* între formaţiunile componente şi citosol, între cele două compartimente se dezvoltă un gradient de concentraţie; de aceea membranele RE desfăşoară o permeabilitate selectivă.

Funcţii diferenţiate

RE rugos este organitul implicat în *sinteza proteinelor de export,* precum şi a proteinelor de membrană destinate diferitelor membrane ale organitelor şi plasmalemei. De aceea RE rugos este foarte bine dezvoltat în celulele seroase ale pancreasului exocrin ce secretă enzime digestive; în plasmocitele ce sintetizează

Scanned with OKEN Scanner

imunoglobuline şi în hepatocite, care produc albumine şi alte proteine serice. De asemenea, având rol în biogeneza membranelor, este bine dezvoltat în neuroni care trebuie să-şi întreţină *„o suprafaţă mare de membrane"*, în prelungiri RE poate fi considerat ca *„fabrică de membrane"* a celulei eucariote.

RE neted poate îndeplini în celule mai multe funcţii :

- *în sinteza hormonilor steroizi :* hormonii sexuali secretaţi de glanda interstiţială Leydig din testicul şi celulele tecale din ovar, hormonii secretaţi de corticosuprarenale ;
- *în metabolismul lipidelor* şi în *sinteza unor lipoproteine* (sinteza trigliceridelor şi a unor complexe lipoproteice) ;
- *în enterocite,* din substanţele absorbite se sintetizează trigliceride care pot fi evidenţiate în interiorul RE neted sub formă de *chilimicroni* (picături de grăsime) ;
- *în metabolismul glucidelor* : intervine în *glicogenoliză (degradarea glicogenului hepatic).* Sub acţiunea fosforilazei în citoplasma hepatocitului, din glicogen este eliberat *glucozo-6-fosfat (G-6-P).* Acesta, sub acţiunea *glucozo-6-fosfatazei* (enzima marker pentru RE), eliberează glucoza care trece în lumenul RE neted ;
- *în gliconeogeneză* prin enzime ce catalizează sinteza de *glicogen* ;
- *în detoxificare,* RE neted din hepatocite participă la metabolizarea unor substanţe endogene sau exogene (medicamente, substanţe toxice, poluanţi), pentru a le neutraliza efectele nocive şi a uşura eliminarea lor. Detoxificarea substanţelor se realizează prin oxidarea, hidroliza, reducerea sau conjugarea (legarea covalentă cu acidul glucuronic). Astfel, sunt metabolizate sărurile biliare, steroizii (hormonii, colesterolul), hemoglobina şi unele medicamente ;
- *în cuplarea excitaţiei cu contracţia în celulele musculare :* reticulul sarcoplasmic prin ST (sistemul transvers) conduce excitaţia de la suprafaţa plasmalemei către interiorul celulei musculare la microfilamentele contractile ;
- *în biosinteza HCl* în celulele *parietale* (acidofile) din glandele stomacului ;
- *în fotosinteză* în celulele pigmentare din retină.

3.6.3. Complexul Golgi

Complexul Golgi este un organit celular prezent în toate tipurile celulare, cu excepţia hematiei adulte. CAMILLO GOLGI în 1898 l-a descoperit în celula nervoasă Purkinje din cerebel şi l-a numit aparatul reticular intern. La MO poate fi evidenţiat în celula proaspătă cu colorantul roşu-neutru, iar în celula fixată, cu săruri de osmiu şi argint. La microscopul optic se prezintă sub formă de reţea perinucleară, vezicule, coardă răsucită terminată în cârlig, imagine Golgi negativă (fig.3.38).

Scanned with OKEN Scanner

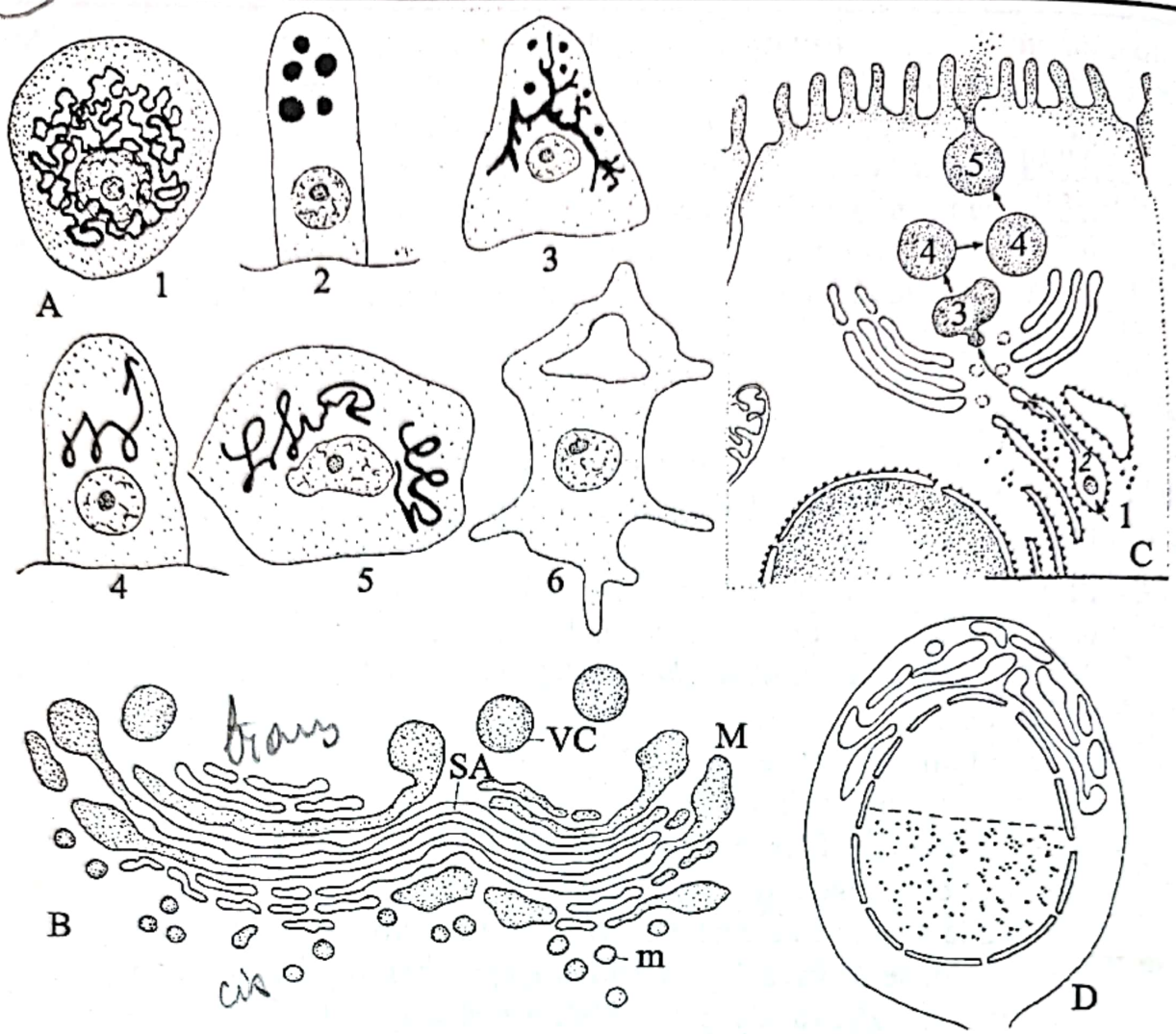


Fig. 3.38. ***Aparatul Golgi*** : A.-Aparatul Golgi la MO : 1-reţea perinucleară ; 2-vezicule ; 3-ramificat printre granulele de secreţie ; 4-reţea terminată în cârlig ; 5-coardă răsucită ; 6-imagine Golgi negativă. B.-aparatul Golgi la ME : SA-saci aplatizaţi ; M-macrovezicule ; VC-vezicule condensate ; m-microvezicule. C-rolul aparatului Golgi în procesul secretor al celulelor seroase din pancreasul exocrin. 1-sinteza proteinelor secretorii la nivelul ribozomilor ataşaţi şi transferul lor în spaţiul intracisternal al REG ; 2-transferul proteinelor înafara cisternelor REG prin detaşarea de mici vezicule ; 3-fuzionarea microveziculelor cu veziculele de condensare ale AG ; 4-transformarea acestora în granule de zimogen ; 5-eliberarea granulelor de zimogen din celulă ; D-formarea acrozomului spermatozoidului

Poziţia în celulă este diferită, după tipul şi activitatea acesteia. În neuroni apare ca o reţea dispusă *perinuclear*, în celulele secretorii exocrine (celulele acinilor seroşi din pancreas) se dispune *supranuclear* între nucleu şi polul lor apical sau *bipolar,* în celulele foliculilor tiroidieni.

Complexul Golgi se găseşte în celulă în mai multe exemplare distincte. Fiecare exemplar la ME constă dintr-o stivă de *cisterne (saci),* asociată cu vezicule mici *(microvezicule)* numite şi vezicule Golgi periferice, pe versantul ce interacţionează cu

RER şi cu *macrovezicule (veziculele Golgi mari),* pe latura ce întreţine schimburi cu plasmalema (fig. 3.39). Prima latură se numeşte *cis* (lat. *cis* = dincoace), iar a doua *trans* (lat. *trans* = dincolo). Complexul Golgi are deci o polaritate. Faţa *cis* se mai numeşte *convexă* sau *imatură,* iar cea *trans, concavă* sau *matură.*
Membrana elementelor Golgi este subţire de 6 nm.

Între structurile complexului Golgi există o mişcare continuă, în sensul migrării lor de la faţa imatură la faţa de maturare a organitului. *Microveziculele (veziculele de transfer)* se formează prin pensarea cisternelor RER, care conţin proteine, se vor uni cu sacii golgieni, iar din aceştia vor lua naştere *macroveziculele* şi apoi *veziculele secretorii* (fig. 3.40).

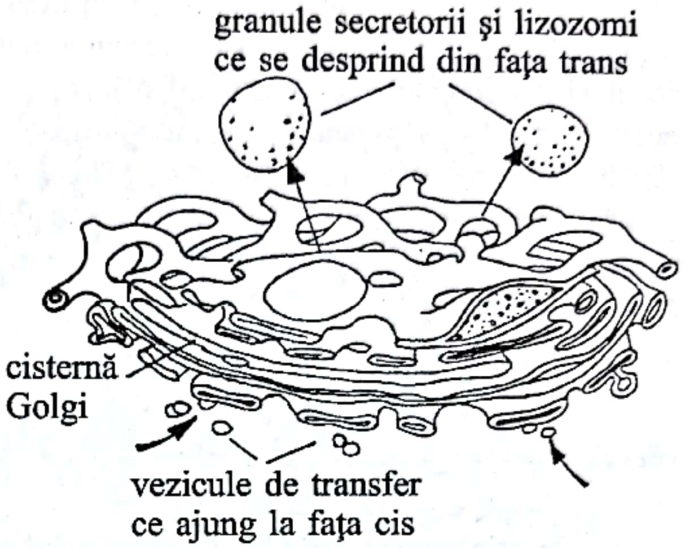


Fig. 3.39. ***Ultrastructura complexului Golgi***

Microveziculele (veziculele de transfer) sunt cavităţi eliptice sau sferoidale de *20-80 nm,* înconjurate de o membrană de *6 nm* şi aşezate de obicei spre faţa *imatură (cis)* a complexului Golgi, între RER şi sacii golgieni. Microveziculele derivă din capetele dilatate ale RER ce se detaşează prin pensare, pierzând în acelaşi timp ribozomii de pe faţa externă a membranei. Unele microvezicule posedă o membrană mai groasă şi sunt pozitive la reacţia pentru fosfatază acidă, fiind interpretate ca lizozomi primari formaţi din complexul GERL *(Golgi-endoplasmic reticulum-lysosome).* Alte microvezicule se unesc cu sacii golgieni, vărsându-şi conţinutul în aceştia.

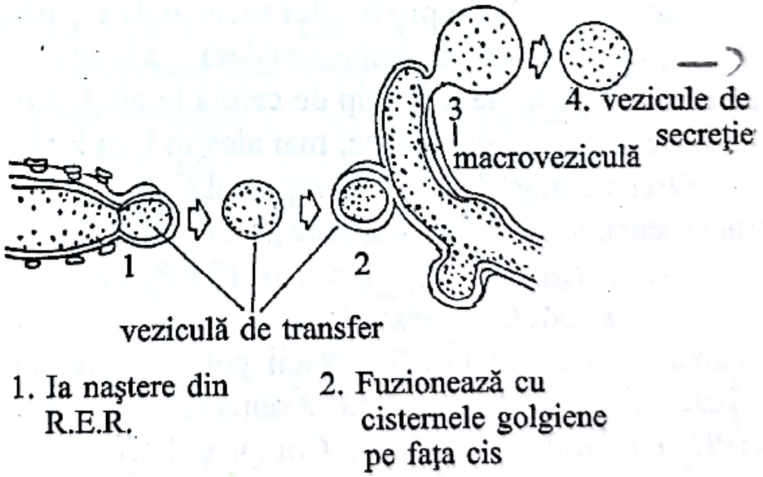


Fig. 3.40. ***Formarea macroveziculelor şi veziculelor de transfer***

Cisternele (sacii) golgiene, de aspect turtit, sunt paralele unele faţă de altele şi apar separate prin spaţii regulate de 20-30 nm. Sacii conţin un material dens,

omogen sau fin granular. Diametrul lumenului în regiunea centrală, unde sacii sunt aproape turtiţi, este de *6-7 nm*, iar la extremităţi sunt foarte destinşi. Numărul sacilor este de 3-12, iar în unele celule specializate într-o secreţie crescută, poate ajunge la 20. Partea laterală a sacilor poate să reprezinte prelungiri care să anastomozeze la extremităţi sacii golgieni între ei sau să-i lege de RE (fig.3.41).

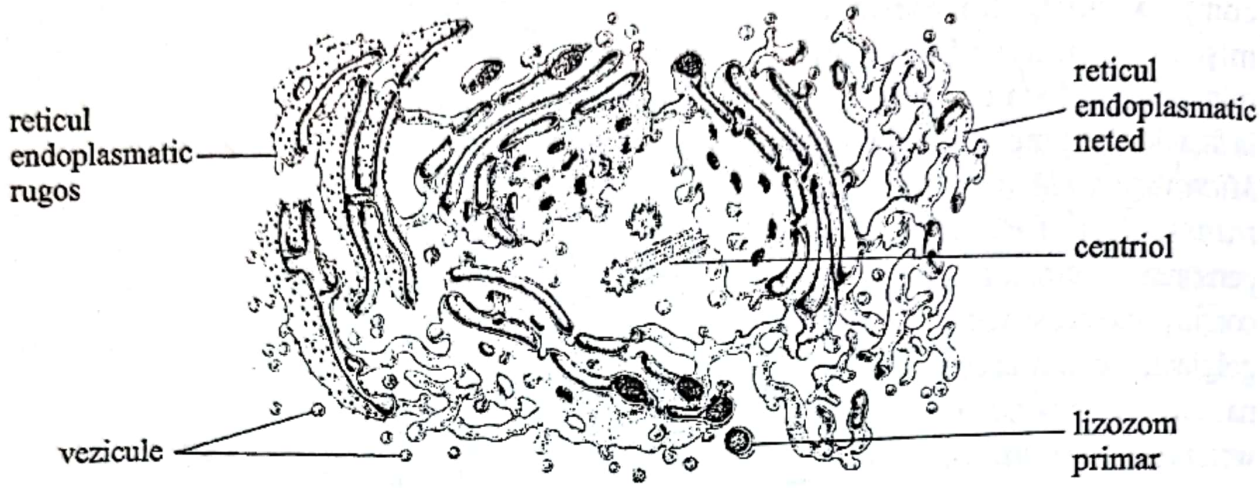


Fig. 3.41. ***Relaţia aparatului Golgi cu reticulul endoplasmic*** *(Liebich, 1999)*

Macroveziculele sunt cavităţi sferoidale sau ovoide, cu diametrul de *200-600 nm* şi sunt numeroase în celulele secretorii. Au un conţinut amorf sau granular-heterogen cu material mai condensat şi inegal la fluxul de electroni. Ele se plasează pe faţa de maturare – trans – a complexului Golgi, fiind *vezicule de secreţie* sau *vezicule de condensare* a produsului secretat de celulă. Macroveziculele iau naştere din dilataţiile laterale ale sacilor golgieni, care se desprind şi se individualizează. Numărul lor diferă de la un tip de celulă la altul, fiind mai numeroase în celulele secretorii exocrine şi endocrine, mai ales în faza lor maximă de activitate.

Organizarea chimică. Complexul Golgi conţine 60 % proteine de structură şi protein-enzime şi 40 % fosfolipide şi colesterol. Enzimele marker pentru complexul Golgi sunt : *tiaminpirofosfataza (TPP), nucleoziddifosfataza (NDP)* şi *glicoziltransferaza*. Complexul Golgi conţine sulfotransferaza care intervine activ în sulfatarea polizaharidelor. Toţi sacii golgieni prezintă pe faţa lor citoplasmatică activitate pentru adenilatciclaza. Asemănător RE, complexul Golgi are $NaDH_2$ şi $NaDPH_2$ *citocrom-c-reductaza*. Complexul Golgi mai conţine fosfatază acidă în veziculele sistemului GERL, mai abundent pe faţa cis a sacilor. Dintre vitamine au fost evidenţiate vitamina A şi K.

Originea complexului Golgi. Structurile golgiene iau naştere din membranele RE, dovada o constituie relaţiile strânse ale complexului Golgi cu RE. Nucleul influenţează formarea complexului Golgi, indirect prin controlul asupra sintezei proteinelor specifice ale endomembranelor.

Scanned with OKEN Scanner

Funcţiile complexului Golgi

Principala funcţie este legată de *procesul de secreţie intracelulară*. El condensează *(concentrează)* produsul de secreţie primit de la RER, îl matureză prin procese biochimice şi îl împachetează în *vezicule secretorii*, care sunt vehiculate spre plasmalemă. Produsul de secreţie (proteinele) ajunge la cisternele golgiene prin microveziculele care se formează prin pensarea extremităţilor cisternale RER.

Formarea de membrane. Membranele RE sunt originea membranelor golgiene, care formează membrane pentru veziculele secretorii şi apoi participă la înnoirea plasmalemei prin procesul de exocitoză. Astfel, membrana veziculelor de secreţie se încorporează în plasmalemă, compensând astfel pierderile de plasmalemă prin endocitoză. Complexul Golgi are rolul de a participa la reciclarea membranelor granulelor secretorii, veziculelor sinaptice, veziculelor de endocitoză. Tot prin procesul de reciclare, unele componente ale plasmalemei ca receptori, enzime, sau unele molecule informaţionale din mediul extracelular ca hormoni peptidici, catecolamine, sunt introduse în celulă, *„via Golgi"*, unde sunt modificate (glicozilate, sulfatate, fosforilate).

Complexul Golgi are astfel rolul principal de a fi staţie de *reînnoire a endomembranelor* şi a *plasmalemei*.

Sinteza complexelor de hidraţi de carbon. Complexul Golgi participă la sinteza glicoproteinelor. Componenta proteică primită de la RER se uneşte cu moleculele de hidraţi de carbon din structurile golgiene. Complexarea proteinelor cu hidraţi de carbon în structurile golgiene se realizează cu ajutorul unor enzime aflate în organit (transferaze, glucozaminidaze etc.). Sinteza de glicoproteine se realizează prin adiţia de galactoză, fucoză, manoză şi acid sialic. Glicoproteinele sintetizate pot rămâne intracelular ca enzime lizozomale sau pot constitui conţinutul veziculelor secretorii care, prin exocitoză, ajung extracelular.

Formarea proteoglicanilor sulfataţi (condroitinsulfaţii) şi a glicoproteinelor sulfatate (mucina) are loc prin procesul enzimatic de sulfatare a glicoproteinelor, realizat prin sulfotransferaza golgiană. Celulele caliciforme (fig. 3.42) din mucoasa tubului digestiv postdiafragmatic secretă mucusul, o glicoproteină sulfatată care

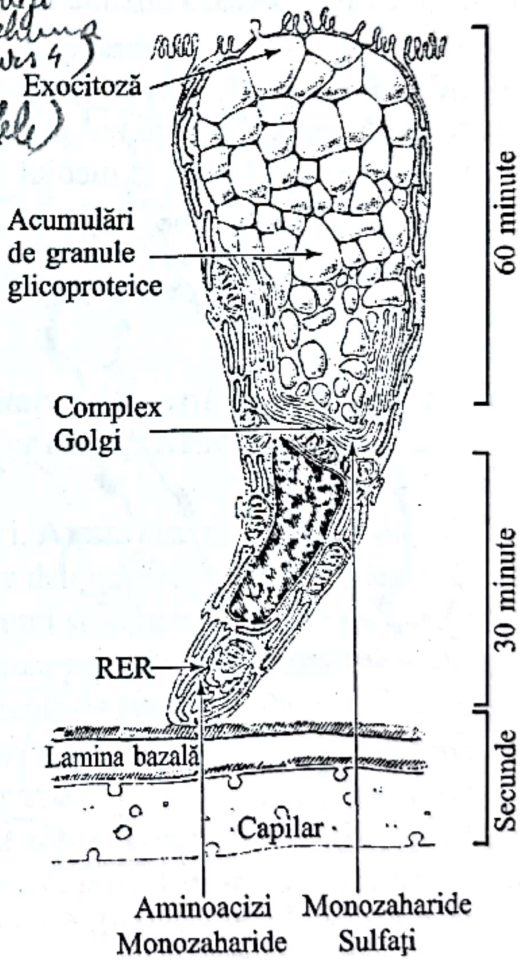


Fig. 3.42. *Diagrama elaborării mucusului în celula caliciformă din mucoasa intestinală (Junqueira şi colab., 1998)*

formează o peliculă protectoare la suprafaţa luminală a enterocitelor. Dacă se inoculează intraperitoneal un precursor marcat al moleculei de proteină sulfatată, precursorul apare în complexul Golgi la 5 minute de la injectare, la 40 minute apare în granulele de mucigen, iar după patru ore el părăseşte celula prin exocitoză la polul apical.

Formarea lizozomilor primari. Pe faţa cis - imatură - se evidenţiază microvezicule pozitive pentru fosfataza acidă, interpretate ca lizozomi primari. Aceştia se formează prin interrelaţia structurală şi funcţională dintre complexul Golgi şi RER în cadrul *sistemului GERL*. Enzimele lizozomale sintetizate în RER sunt transportate şi împachetate, fie în GERL, fie în *veziculele de condensare*. În cadrul sistemului GERL, se scurtcircuitează sacii golgieni, descărcarea enzimelor producându-se direct în veziculele de condensare. În cadrul ciclului secretor al enzimelor lizozomale, descărcarea microveziculelor are loc în sacii golgieni, apoi se formează veziculele condensate, viitorii *lizozomi*.

Formarea acrozomului. În spermiogeneză (metamorfoza spermatidei în spermatozoid), complexul Golgi se dispune supranuclear, se modifică şi structurează *acrozomul* care eliberează enzime litice la contactul cu ovulul.

3.6.3.1. Ciclul secretor

Acesta reprezintă drumul pe care îl parcurg proteinele de export de la locul de sinteză în celulă şi până în mediul extracelular (fig. 3.43).

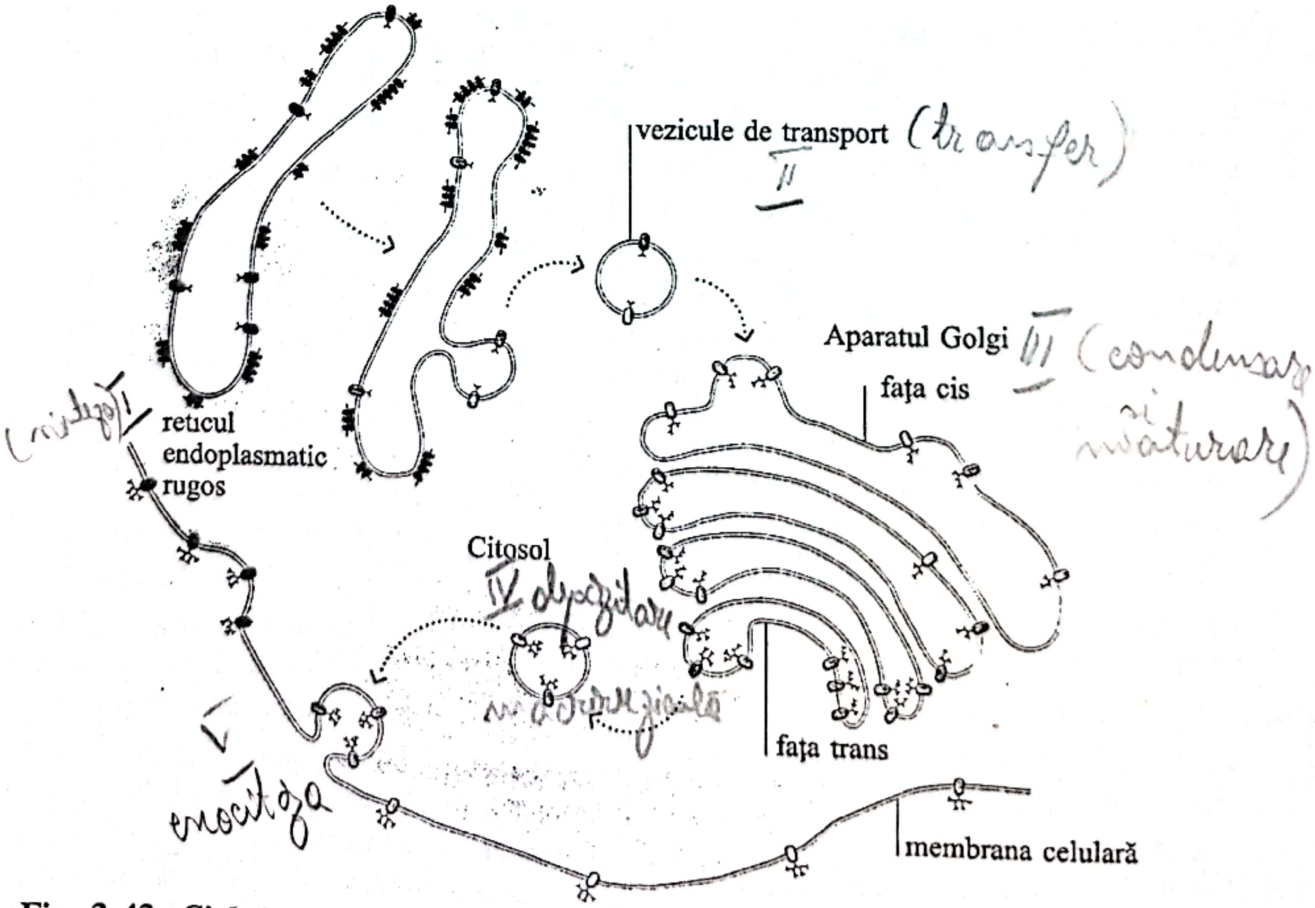


Fig. 3.43. *Ciclul secretor în celulă (Junqueira, 1998)*

Ciclul secretor cuprinde 5 etape :

Etapa I : Sinteza şi segregarea proteinelor de export la nivelul RER (fig. 3.44). Proteinele sunt sintetizate într-un *minut* pe *poliribozomii (polizomi)* încă neataşaţi membranelor RE. Polizomul este un grup de ribozomi legat de o moleculă de ARN-m de 2 nm. Într-un polizom, ribozomii aşezaţi la distanţe de circa *100 nucleotide* unul de altul, sintetizează fiecare independent câte un lanţ polipeptidic. Lanţul polipeptidic este adăpostit în tunelul subunităţii mari ribozomale. La un anumit stadiu de formare a acestui lanţ polipeptidic ribozomii se ataşează de membrana RE prin *riboforina I şi II* care descifrează semnalul adus de ARN-m al lanţului polizomal prin capătul *amino* al peptidei ce se formează. În momentul ataşării polizomilor se formează un tunel şi în membranele REG, în continuarea celui din subunitatea mare ribozomală. Tunelul este delimitat de o parte şi de alta de proteinele asociate specifice. Prin tunel trec în spaţiul endoplasmatic lanţurile polipeptidice nou-formate. Astfel, în structura primară a fiecărei proteine există o secvenţă specifică semnal, care recunoaşte şi este recunoscută de o poziţie specifică a membranei RER.

Etapa a II-a : transportul intracelular al proteinelor prin microveziculele de transfer ce iau naştere în urma pensării cisternelor RE la complexul Golgi. Această etapă durează între *20-24 minute*. Microveziculele iau naştere din porţiunile terminale ale cisternelor REG ce se află în apropierea complexului Golgi. Aceste cisterne pierd ribozomii de pe faţa externă a membranelor lor şi, prin pensare dau naştere microveziculelor. Acestea sunt încărcate cu proteinele sintetizate de polizomi şi se îndreaptă spre sacii golgieni.

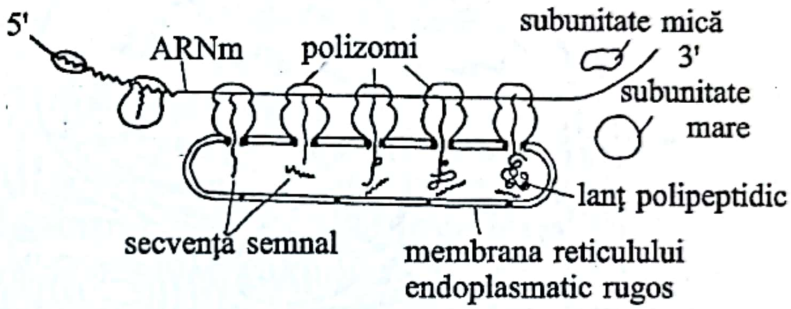


Fig. 3.44. ***Formarea lanţurilor polipeptidice la nivelul polizomilor ataşaţi RER***

Etapa a III-a. Condensarea şi maturarea proteinelor în structurile golgiene în care ajung cu ajutorul *microveziculelor (vezicule de transfer)*. Procesul de maturare al proteinelor durează *o oră*. Concentrarea proteinelor se realizează în macrovezicule golgiene, care apoi devin *vezicule de condensare*. Maturarea rezultă din interacţiunea proteinelor cu un *peptidoglican sulfatat*, sintetizat în complexul Golgi şi prezent în veziculele de condensare. Din această interacţiune se formează agregate osmotic inactive, însoţite de eliberarea de molecule de apă din proteinele nou-formate.

Etapa a IV-a : depozitarea intracelulară, câteva minute, sub formă de *vezicule secretorii*. Acestea rămân în citoplasmă, apoi sunt trecute în ectoplasmă şi mai departe, în mediul extracelular, trecerea fiind determinată în general de acţiunea unor hormoni sau neurotransmiţători.

Scanned with OKEN Scanner

Etapa a V-a: exocitoza. Veziculele secretorii sunt trecute în mediul extracelular. Procesul este dependent de concentraţia intracelulară a *ionilor de calciu* Ca^{2+}, de prezenţa moleculelor de *ATP* şi de *AMP*$_c$ (fig.3.45)

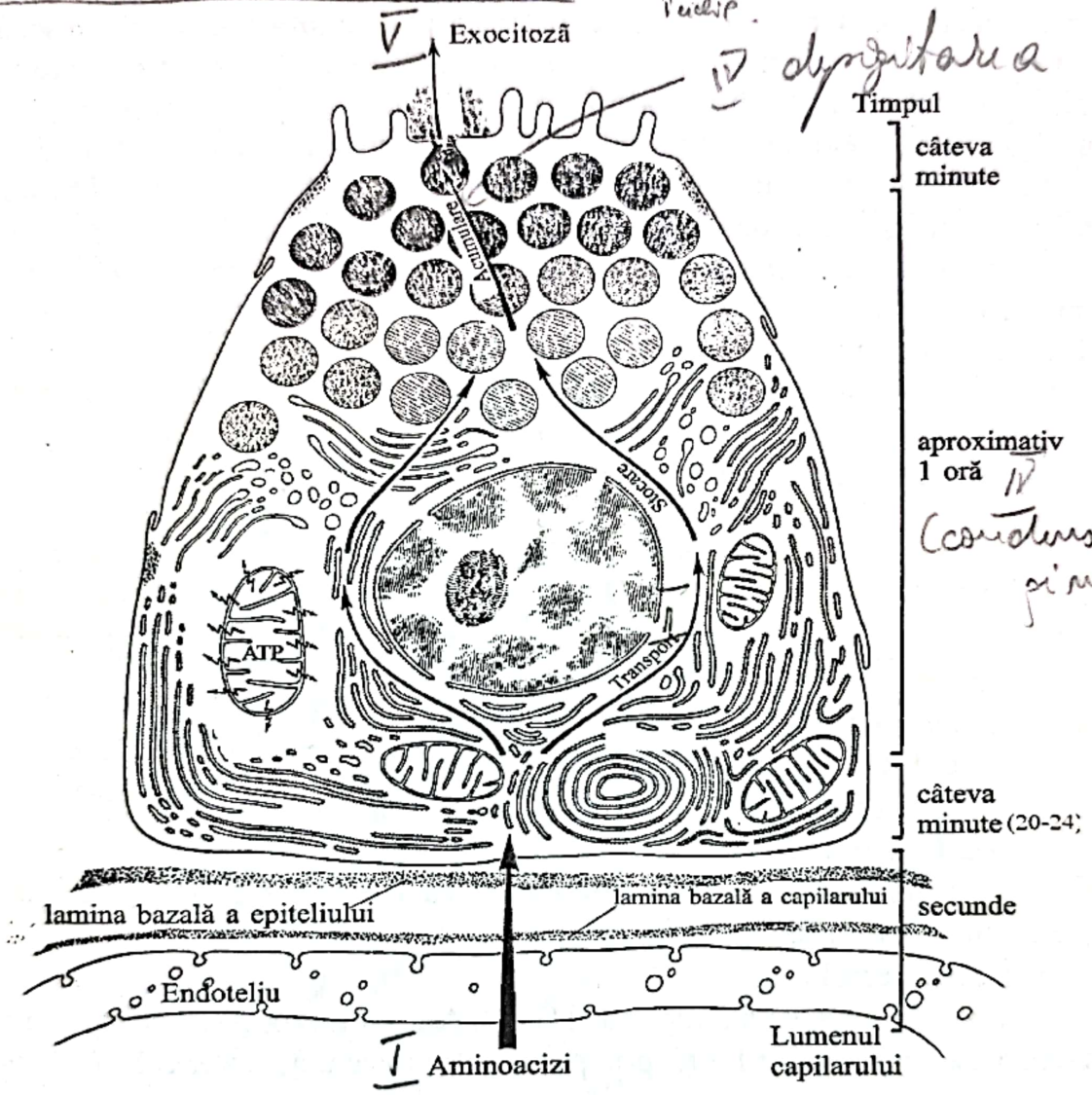


Fig. 3.45. ***Ciclul secretor în celula seroasă din acinii seroşi ai pancreasului exocrin. Exocitoza veziculelor secretorii*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Veziculele secretorii vin în contact cu faţa internă a plasmalemei. Prezenţa moleculelor de ATP şi AMP$_c$ şi a Ca^{2+} provoacă contracţia microfilamentelor care determină deschiderea veziculelor şi eliminarea conţinutului în spaţiul extracelular.

Prin exocitoză trec în mediul extracelular : hormoni, enzime, imunoglobuline, lipoproteine, neurotransmiţători, constituienţi ai serului şi ai laptelui, componente ale membranei celulare, ale glicocalixului sau alţi produşi sintetizaţi în reticulul endoplasmic şi condensaţi în complexul Golgi. Tot prin exocitoză, prin acelaşi mecanism pot fi eliminaţi şi unii produşi terminali, metabolic inerţi, nefolositori celului.

Scanned with OKEN Scanner

3.7. Organitele digestiei celulare

Prin digestie celulară se înţelege totalitatea fenomenelor care conduc la degradarea moleculelor pătrunse în citoplasmă prin endocitoză, a unor organite uzate, a unor fragmente de celulă sau structuri celulare. În fenomenele de digestie celulară sunt implicate două tipuri de organite: *lizozomii* şi *peroxizomii*.

3.7.1. *Lizozomii*

Lizozomii sunt organite celulare de formă sferică sau ovoidală, prezenţi în citoplasma tuturor celulelor animale cu excepţia hematiei. Ei au fost descoperiţi de către DE DUVE (1955) prin tehnici de fracţionare celulară şi apoi au fost descrişi ca organizare ultrastructurală de către NOVIKOFF (1956). Aceste organite au mai primit denumirea de *corpi litici*, *stomacul celulei* ori *saci de sinucidere*.

Diametrul lor este variabil (200-800 nm).

Organizarea ultrastructurală: lizozomii sunt alcătuiţi din *membrană lizozomală* şi *matrice lizozomală*.

Membrana lizozomală are structura comună endomembranelor, lipoproteică şi mozaicată, cu grosimea de 6 *nm*, ce se prezintă ca o barieră între enzimele digestive şi citosol, împiedicând pătrunderea acestor hidrolaze în matricea citoplasmatică. Agenţii stabilizatori ai membranei lizozomale sunt hormonii glucocorticosteroizi (cortizon, cortizol) şi colchicina, iar cei labilizatori sunt: vitaminele A, E, radiaţiile X şi UV, endotoxinele, hormonii steroizi sexuali (testosteron, progesteron), şocul osmotic, hipoxia, anoxia.

Matricea lizozomală apare de aspect diferit la ME: omogenă, fin granulară, sau heterogenă ceea ce determină un polimorfism lizozomal în fiecare celulă. Ei pot fi de două tipuri: *lizozomi primari* şi *lizozomi secundari* (fig. 3.46).

Lizozomii primari sunt lizozomii care nu au fost încă angajaţi în activitate. Au talie mică, o matrice omogenă sau fin granulară şi adeseori un set incomplet de hidrolaze acide. Sunt lizozomi tineri cu o durată de viaţă scurtă (24-48 ore). Conţinutul enzimatic este în raport cu specia, tipul celular, starea funcţională etc. De exemplu, lizozomii primari ai polimorfonuclearelor neutrofile (macrofage mobile) conţin o mare cantitate de *neuroaminidază* care distruge membrana bacteriilor; lizozomii macrofagelor au un conţinut bogat în fosfataze acide. De la locul lor de formare (complexul Golgi), lizozomii migrează către veziculele de endocitoză, se contopesc cu acestea, rezultând *lizozomii secundari*.

Lizozomii conţin peste 40 enzime digestive, printre care: proteaze, nucleaze (RN-ază, DN-ază), glicozidaze, lipaze, fosfolipaze, sulfataze şi fosfataze (fig. 3.47). Cu acest set de enzime, lizozomii sunt capabili să digere majoritatea constituienţilor celulelor şi ţesuturilor, adică proteine, acizi nucleici, lipide, hidraţi de carbon şi glicozoaminoglicani până la elementele constituitive de bază: aminoacizi sau

dipeptide, monozaharide şi acizi graşi. Marea majoritate a enzimelor lizozomale sunt hidrolaze acide (cu activitate optimă la pH < 5,0), pH-ul intralizozomal este menţinut mai scăzut decât al citosolului. *Enzimele marker* pentru identificarea lizozomilor pe secţiuni de ţesuturi sunt *fosfataza acidă* şi *arilsulfataza*, iar în timpul fracţionării celulare : *fosfataza acidă, catepsina C, N-acetil-beta-glucozaminidaza*. Heterogenitatea structurală a lizozomilor se datorează faptului că înafară de hidrolaze acide, ei conţin componente de origine extra- sau intracelulară care sunt supuse digestiei şi care pot fi prezente în diferite stadii de degradare. Datorită acestui fapt, pentru identificarea lizozomilor s-au folosit enzimele marker, atât la microscopul electronic, cât şi la fracţionarea celulară.

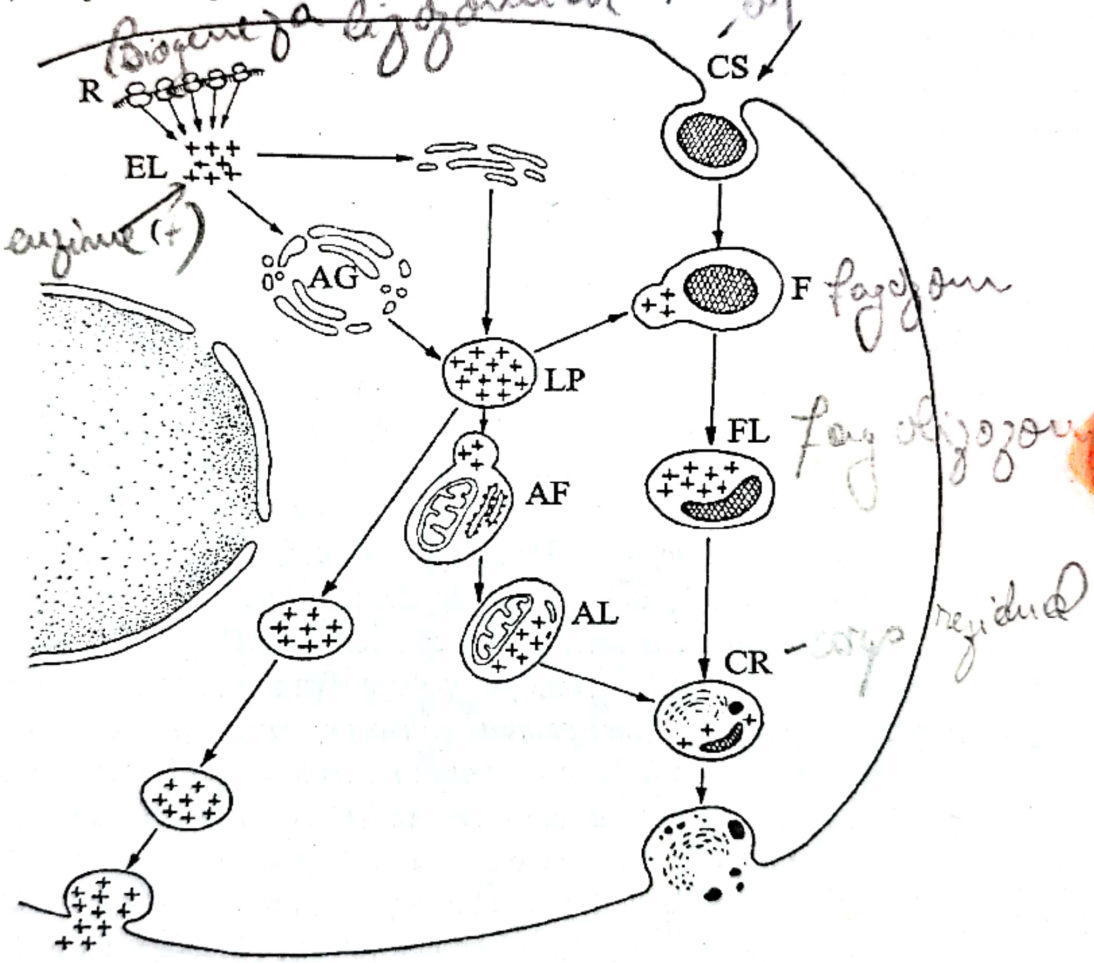


Fig. 3.46. ***Formarea lizozomilor primari şi secundari*** : EL – enzime lizozomale migrând de la sediul sintezei de proteine ; R-ribozomi ; AG-aparatul Golgi ; LP-lizozom primar ; AF-autofagozom ; AL-autolizozom ; CS-corp străin ; F-fagozom ; FL-fagolizozom ; CR-corp rezidual.

Lizozomii secundari sunt cei funcţionali cu activităţi enzimatice digestive. Au o durată de viaţă mai lungă (de la câteva zile la câteva săptămâni), talie mai mare, matrice heterogenă ce conţine structuri granulare, membranoase şi un set enzimatic complet. Lizozomii secundari rezultă din fusiunea lizozomilor primari

cu diferite substanţe endocitate sau degradate din celule (fig. 3.48).

Lizozomii secundari sunt: *heterofagolizozomii, autofagolizozomii, crinofagolizozomii, corpii reziduali* şi *corpii multiveziculari*.

După natura substratului (materialului) asupra căruia acţionează lizozomii, există trei tipuri de „*digestie lizozomală*": *heterofagia* (lizozomii acţionează asupra materialelor exogene înglobate prin endocitoză); *autofagia* (lizozomii acţionează asupra propriilor constituienţi citoplasmatici segregaţi în „focare de citoliză"); *crinofagie* (procesul de scindare a granulelor de secreţie celulară).

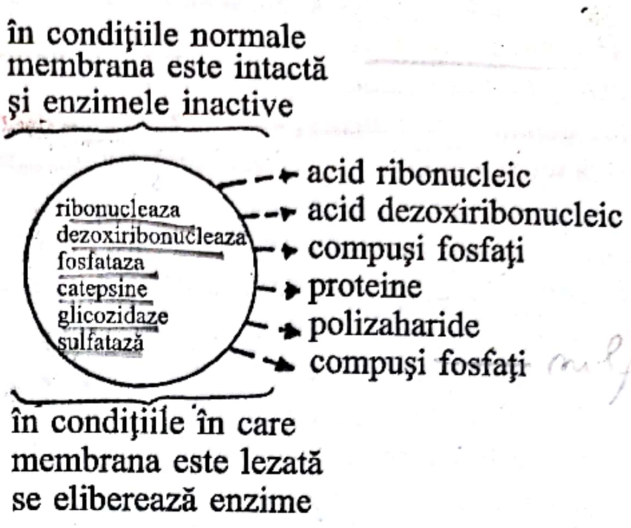


Fig. 3.47. *Conţinutul enzimatic lizozomal şi compuşii chimici asupra cărora acţionează*

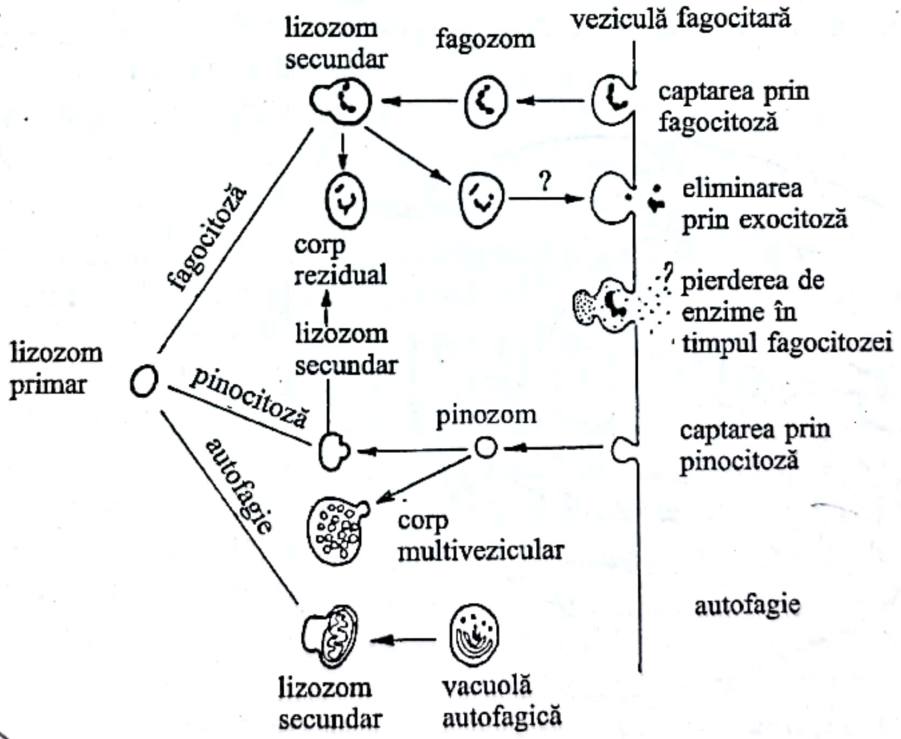


Fig. 3.48. Materialul ingerat de celulă din mediul extracelular prin endocitoză (fagocitoză şi pinocitoză) sau provenind din mase intracelulare (autofagie sau crinofagie) este cantonat în vezicule delimitate de membrane *(fagozomi, pinozomi, vacuolă autofagică)*, care se unesc cu lizozomii primari, formând vacuole digestive active – *lizozomi secundari*. Vacuolele ce conţin material nedigerat – *corpi reziduali* – îşi descarcă conţinutul prin exocitoză.

Scanned with OKEN Scanner

Heterofagia este procesul de digestie intracelulară cu ajutorul lizozomilor, a substanţelor nutritive, a bacteriilor, a virusurilor introduse în citoplasmă prin *endocitoză (fagocitoză, pinocitoză)*. În urma acestor procese de endocitoză rezultă *fagozomul (heterofagozomul)* în cazul fagocitozei ; *pinozomul* în procesul de pinocitoză fără receptori şi *receptozomul* în pinocitoza mediată de receptori. Prin mişcările din citoplasmă ei sunt antrenaţi către interiorul celulei. Asupra lor se îndreaptă *chimiotactic* lizozomii primari şi prin fusionare formează *lizozomii secundari (fagolizozomul şi pinolizozomul)*. În interiorul lizozomului secundar, enzimele hidrolitice lizozomale încep procesul de digerare a produsului înglobat, proces de durată diferită ce depinde de complexitatea materialului endocitat. Prin acţiunea enzimelor asupra substanţelor înglobate în celulă, se obţin molecule mici de proteine, hidraţi de carbon şi lipide ce vor traversa membrana heterolizozomului, fiind puse la dispoziţia celulei pentru refacerea structurilor intracitoplasmatice. Pe măsură ce produşii de digestie părăsesc pinolizozomul, acesta îşi micşorează volumul, ceea ce produce invaginarea membranei lizozomale cu formarea unor vezicule multiple, care apoi sunt digerate în interior. Aspectul este vizibil electronomicroscopic sub forma unor vezicule mici, aflate în interiorul lizozomilor secundari, denumiţi *corpi multiveziculari*.

Autofagia constă în distrugerea porţiunilor uzate din citoplasmă. Astfel, *mitocondriile uzate, peroxizomii*, porţiunile *din RE uzate*, sunt înconjurate la început cu o membrană numită *înveliş de izolare*, provenit din RE, sau după date recente, din complexul Golgi, rezultând vacuole autofagice, numite *autofagozomi* (fig. 3.49). Acestea conţin materialul intracelular ce trebuie îndepărtat. Autofagozomii fuzionează cu lizozomii primari, formându-se *autofagolizozomii*, în care se produce digerarea organitelor incluse. Produsele de digestie sunt eliberate în citoplasmă spre a fi reutilizate. Datorită autofagiei, lizozomii asigură reînnoirea *(turnover-ul)* componentelor citoplasmei : mitocondriile au o viaţă de circa *12 zile ; peroxizomii- 2-3 zile ; ribozomii – 10 zile. În fiecare se distrug mai mult de un miliard de mitocondrii pe un*

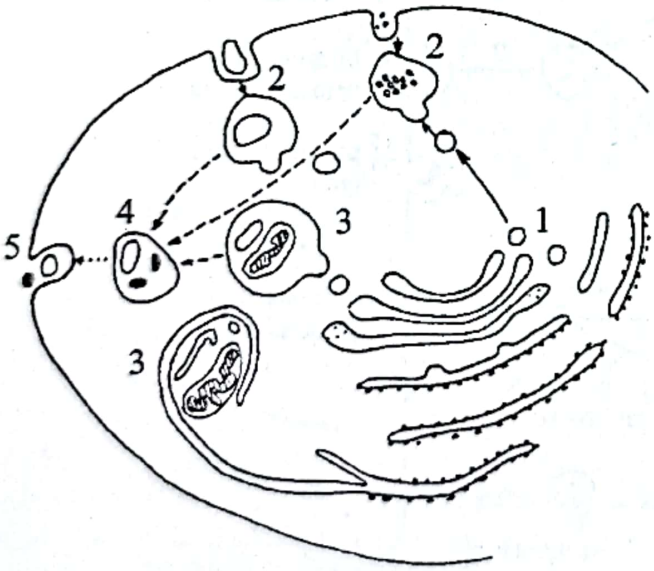


Fig. 3.49. ***Autofagia şi heterofagia*** : 1.-lizozomi primari ; 2.-lizozomi secundari (heterofagolizozomi) ; 3.-autofagolizozomi ; 4.-lizozomi terţiari ; 5.-elemente nedigerabile eliminate la exteriorul celulei.

Scanned with OKEN Scanner

gram ţesut, într-o oră. Procesele de autofagie sunt accelerate în *inaniţie,* când are loc înmulţirea autofagolizozomilor în ficat şi muşchi.

Un aspect particular de autofagie denumit *crinofagia* se observă în celulele secretorii exocrine şi endocrine. În aceste celule, în unele faze de hiperactivitate se acumulează un surplus de vezicule secretorii care nu ajung să fie exocitate. Surplusul secretat va fi digerat cu ajutorul enzimelor lizozomilor primari cu care veziculele secretorii fuzionează într-o vacuolă unică, numită *crinofagolizozom.* Moleculele mici, rezultate trec în citosol, unde apoi sunt reutilizate. În acest mod lizozomii intervin în reglarea produşilor de secreţie. De obicei, digestia în heterolizozomi şi în autolizozomi este incompletă, deoarece unele materiale nu sunt digerabile. Lizozomii care şi-au terminat funcţia digestivă şi conţin resturi nedigerabile, se numesc *lizozomi terţiari, telolizozomi* sau *corpi reziduali.* Aceştia sunt eliminaţi în cea mai mare parte înafara celulei prin procesul de exocitoză. În cazul celulelor care nu se divid *(neuronii, celulele musculare),* corpii reziduali se acumulează cu vârsta, formând *granule de lipofuscină.* Corpii reziduali mai pot conţine : figuri mielinice care reprezintă produşii de degradare ai fosfolipidelor ; pigmenţi hemoglobinici sub forma granulelor de hemosiderină ; substanţe străine injectate etc.

Biogeneza lizozomilor. Sinteza enzimelor lizozomale se realizează la nivelul ribozomilor ataşaţi de RER din care iau naştere microveziculele care transportă hidrolazele acide fiind apoi împachetate în GERL sau în veziculele de condensare (vezi 3.6.3).

3.7.2. Peroxizomii

Peroxizomii sunt organite celulare constante, care se caracterizează printr-un bogat conţinut în *peroxidaze* care catalizează reacţia de formare *(oxidază)* şi de descompunere *(catalază)* a apei oxigenate (H_2O_2 – *peroxid de hidrogen*), de aici denumirea lor. Au fost observaţi de către RHODIN (1954) în rinichi (denumiţi *„microbodies"*). Apoi, conceptul de peroxizomi a fost dezvoltat de DE DUVE şi colab., 1975. În studii de fracţionare a hepatocitului, prin care s-a evidenţiat o fracţiune subcelulară având ca enzime marker *uratoxidaza, catalaza* şi *D-aminoacidoxidaza.* Ei se evidenţiază prin utilizarea reactivului *3-3'- diaminobenzidină (DAB).* În cotiledoanele plantelor ce depozitează lipide, ei au primit denumirea de *gliozomi,* deoarece conţin *ciclul glioxilic* şi participă la transformarea lipidelor în hidraţi de carbon. Termenul de glioxizomi este însă acceptat şi pentru celulele animale, reprezentând acei peroxizomi care, pe lângă catalaze şi alte enzime peroxizomale, mai conţin şi cel puţin două enzime ale ciclului glioxilat *(malat-sintetaza şi izocitrat-liaza).*

Numărul peroxizomilor diferă de la un tip celular la altul, iar în aceeaşi celulă, în funcţie de momentul ei de activitate. În multe celule, numărul peroxizomilor poate fi mai mare decât al lizozomilor.

Ultrastructura. Au forma unor vacuole sferice sau ovoide, cu dimensiunea de 300-500 nm, uneori de forme neregulate, cu prelungiri. Ei sunt delimitaţi de o

endomembrană de 6 nm şi conţin o *matrice* fin granulară, uneori cu un *cristaloid* (fig. 3.50). Cristaloidul apare ca un mănunchi de tubuli paraleli şi denşi la fluxul de electroni, care, pe secţiune transversală dau imaginea unui fagure de miere. În general matricea peroxizomilor apare mai întunecată la fluxul de electroni decât matricea lizozomală.

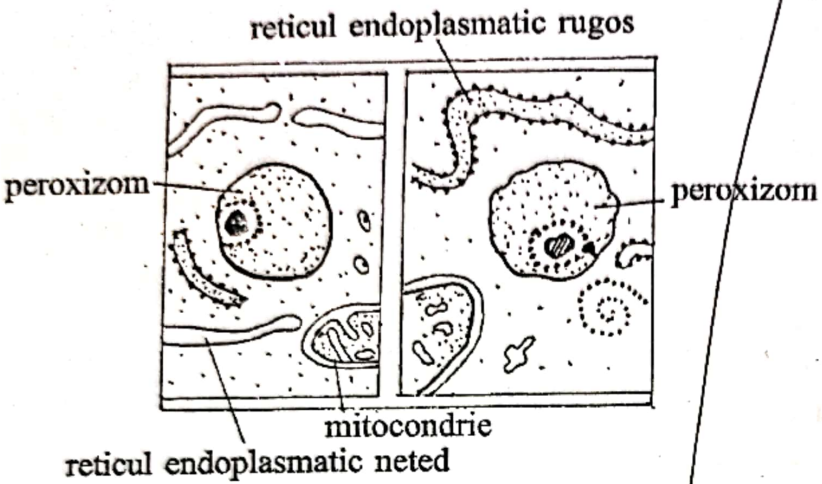


Fig. 3.50. ***Ultrastructura peroxizomului***

După LAZAROW (1981), între peroxizomi, se poate remarca o continuitate formându-se un *„reticul peroxizomal"*, diferit de RE. Uneori s-a evidenţiat continuitate între membrana microperoxizomilor şi REN.

Originea. Peroxizomii se formează prin participarea RER şi complexul Golgi, în care enzimele se formează în RER iar endomembrana în aparatul Golgi. Se pare că *uricaza* şi *catalaza* sunt antrenate în peroxizomii din citosol.

Organizarea chimică. Peroxizomii conţin proteine, lipide şi enzime speciale : *catalaza,* reprezintă 33 % din proteinele peroxizomale şi este *marker peroxizomal ; uricaza (uratoxidaza) ; D-aminoacid-oxidaza, enzimele ciclului glioxilat* etc.

Funcţiile peroxizomilor :

Funcţia respiratorie (fig. 3.51) se realizează prin intermediul unor *oxidaze* care folosesc oxigenul molecular pentru oxidarea directă a unor substraturi variate, producând peroxidul de hidrogen (H_2O_2): $RH_2 + O_2 \longrightarrow R + H_2O_2$.

Apa oxigenată rezultată este toxică pentru celulă, deoarece formează radicali liberi foarte activi, ce atacă proteinele şi acizii nucleici ; este descompusă de *catalază :*

$H_2O_2 + R'H_2 \longrightarrow R' + 2H_2O$

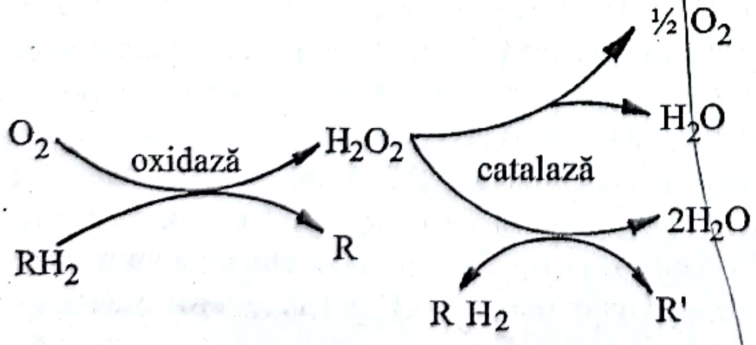


Fig. 3.51. ***Funcţia respiratorie a peroxizomilor***

Alfa-hidroxiacid-oxidaza este o altă enzimă peroxizomală care catalizează oxidarea lactatului în piruvat, având rol în reglarea *catabolismului glucozei* (fig. 3. 52).

Scanned with OKEN Scanner

Alfa-hidroxiacid-oxidaza şi *D-aminoacid-oxidaza (amino-transferaza)* au rol în gluco-neogeneză (sinteza glucozei pe seama unor precursori neglucidici). Aceste enzime asigură transferul ireversibil al grupărilor amino de la leucină, fenilalanină, sau alţi aminoacizi, formându-se în acest mod *alfa-cetoacizii* care reprezintă substratul pentru gluco-neogeneză.

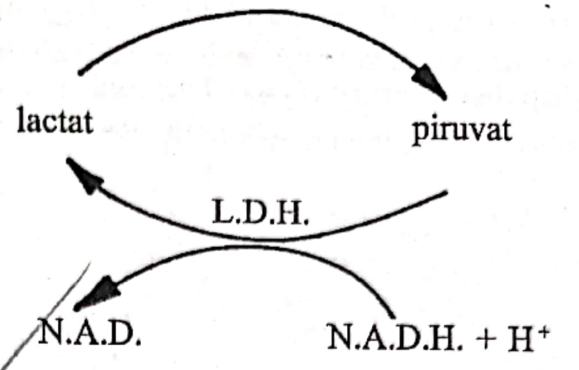


Fig. 3.52. ***Rolul peroxizomilor în reglarea catabolismului glucozei***

Peroxizomii intervin în metabolismul acizilor nucleici prin *uratoxidaza* care degradează purinele (adenina şi guanina).

Pot realiza *beta-oxidarea acizilor graşi* cuplaţi cu CoA. Ei împart această funcţie cu mitocondria, fiind mai puţin activi decât aceasta (25 % faţă de mitocondrie). Faţă de oxidarea din mitocondrie, în peroxizomi sub acţiunea enzimei *(acetil-Co A-oxidaza)* rezultă H_2O_2.

Produc acetil-Co A şi *reduc NAD⁺ la NADH,* folosiţi apoi de mitocondrie pentru a genera ATP.

Rol în termogeneză. Peroxizomii produc căldură şi adaptare la frig, numărul lor fiind crescut în ţesutul adipos brun.

3.8. Incluziunile (pseudoincluziunile) citoplasmatice

În matricea citoplasmatică pot apărea în exces diferiţi produşi ai metabolismului, care pot fi depozitaţi temporar sau definitiv în celulă, care au primit iniţial denumirea de incluziuni (fig. 3.53). Incluziunile citoplasmatice sunt reprezentate de : *substanţe de rezervă* (proteine, lipide, glucide, vitamine, minerale, cristaloide) ; *produşi de elaborare* (granule de zimogen, granule de mucigen, granule de pigment, hormoni) ; *produşi de dezasimilaţie* (pigmentul lipofuscinic).

Incluziunile :

I. Substanţe de rezervă
- proteine
- lipide
- glucide - glicogen
- vitamine (A, C)
- minerale
- cristaloide (Reinke)

II. Produşi de elaborare
- granule de zimogen
- granule de mucigen
- hormoni
- granule de pigment *)

*) *Pigmenţii pot fi :*

- endogeni
  - carotenoizi
    - lipocromi
    - luteina
    - carotenprotidele (caroten-albumina, iodopsina, rodopsina)
  - cromolipoizi
    - lipofuscina
    - hemofuscina
  - melanici (melanina)
  - cu nucleu tetrazolic
    - hemoglobina
    - mioglobina
    - hemosiderina
- exogeni
  - particule de praf, cărbune (*antracoza*)
  - particule de fier (*sideroza*)
  - particule de nisip, siliciu (*silicoza*)

III. Produşi de dezasimilaţie – pigmentul lipofuscinic

Proteinele se depozitează ca substanţe de rezervă în fibrele musculare, hepatocite şi vitelusul ovulului la mamifere, dar mai ales la păsări. Proteinele se prezintă sub formă de granule fine sau mase omogene evidenţiabile prin reacţia Millon (roşii), reacţia xantoproteică (galbene) şi impregnări argentice (brune).

Lipidele (în general trigliceride) apar sub formă de picături de diferite mărimi, de obicei sferice. Ele se evidenţiază în secţiuni obţinute la criostatul Slee şi se pot colora în galben (Sudan III), roşu (Scarlach R), negru (Sudan negru-B). Lipidele apar frecvent în hepatocite, în diferite cantităţi, în funcţie de diverse stări fiziologice sau patologice. Lipidele sunt prezente sub formă de picături şi în celulele elaboratoare de hormoni steroizi în corticosuprarenală, ovar, corp luteal şi testicul, constituind substratul în steroidogeneză. Ele pot apărea în picătură unică mare, ce ocupă aproape

toată matricea în *adipocitele uniloculare* din ţesutul adipos alb, sau sub formă de picături mici dispersate în citosol (*adipocitele multiloculare* din ţesutul adipos brun). Adipocitul din ţesutul adipos alb apare în coloraţia HE cu aspect de *inel cu pecete*, nucleul fiind la periferie, iar cel din ţesutul adipos brun, cu citoplasma vacuolară şi nucleul plasat central (fig. 3.54).

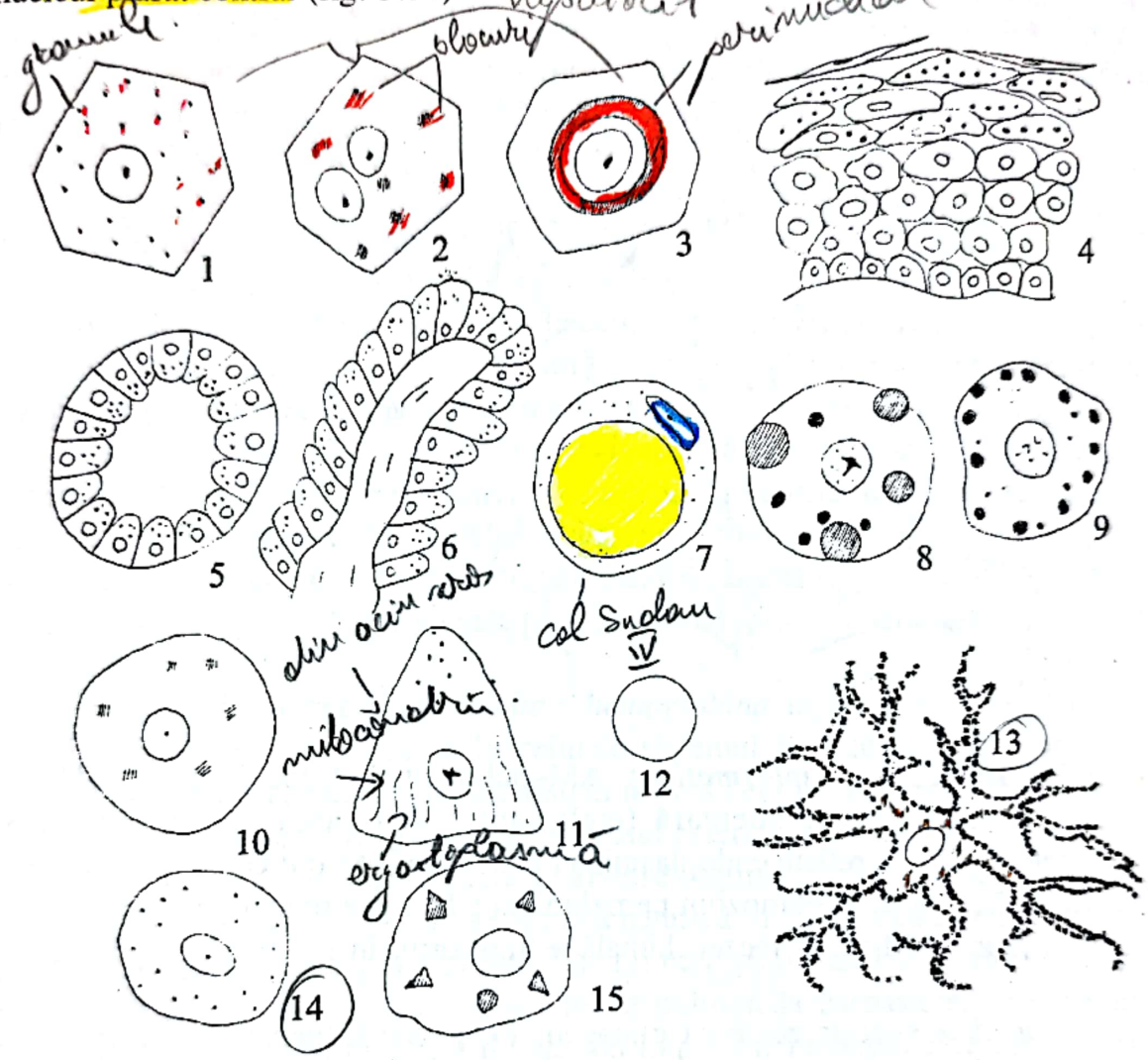


Fig. 3.53. ***Incluziuni citoplasmatice***. Glicogen: 1-granule; 2-blocuri; 3-depozite perinucleare în hepatocit, coloraţia PAS; Protide: 4-granule de cheratohialină şi eleidină, în celulele epiteliale epidermice, coloraţia Pizzolato-Lillie; 5-proteoglicani la polul apical al celulelor epiteliului glandei uterine, coloraţia PAS cu extragerea glicogenului; 6-proteoglicani la polul apical al celulelor din epiteliul cervixului, coloraţia albastru-Alcian; Lipide: 7-sub forma unei picături mari în adipocitul unilocular; 8-picături de diferite dimensiuni în celula luteinică; 9- picături dispuse în coroană în celula luteinică, coloraţia Sudan III; 10-cristale Reinke în celulele Leydig din testicul; 11-granule de zimogen la polul apical al celulelor seroase, coloraţia cu tionină; 12-hemoglobina în hematie; 13-melanina sub formă de granule; 14-acidul L-ascorbic (vitamina C în celulele interstiţiale din ovar); 15-colesterolul sub formă de cristale în celulele Leydig din testicul.

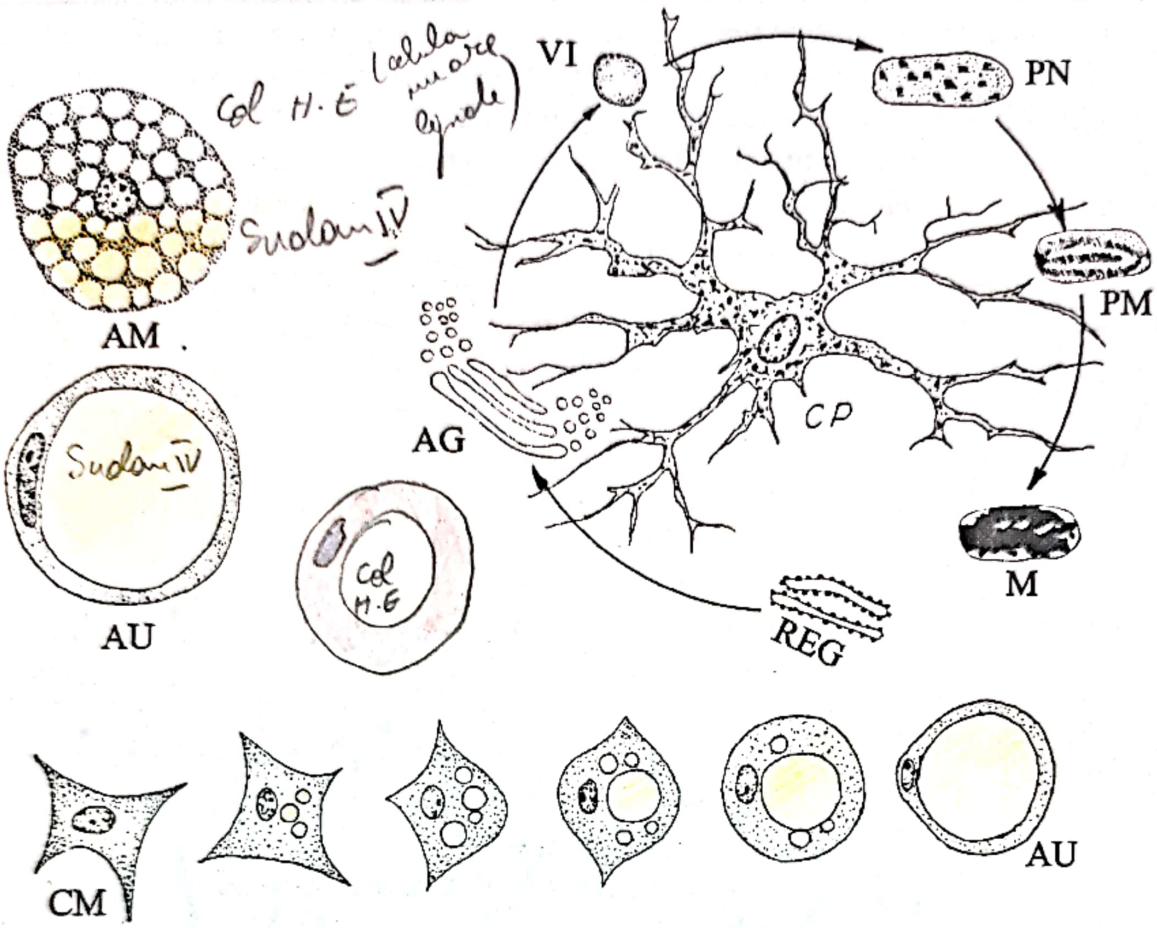


Fig. 3.54. ***Incluziile citoplasmatice***: AM- adipocit multilocular; AU-adipocit unilocular; CP-celula pigmentară (melanocit); Formarea melanozomilor şi melanogeneza: REG-reticul endoplasmic granular; AG-aparat Golgi; VI-veziculă intermediară; PN-premelanozom nemelanizat; PM-premelanozom melanizat; M-melanozom; CM-celula mezenchimală se transformă în adipocit unilocular (AU).

Glucidele sunt prezente ca glicogen, în special în hepatocite şi în fibrele musculare. Glicogenul se evidenţiază prin metoda PAS (*PAS* = Periodic Acid Schiff) sau prin colorare cu carmin Best, apărând în roşu-violaceu sub formă de grămezi sau plaje. La microscopul electronic, glicogenul apare sub formă de *particule mari*, neregulate, în rozetă, cu diametrul de 150 nm *(particule alfa)*, sau sub formă de *particule mici* cu aspect de bastonaşe lungi de 20-30 nm *(particule beta)*.

Vitaminele pot fi evidenţiate prin fluorescenţă naturală *(vitamina A)* în epitelii, iar *vitamina C (acidul L-ascorbic)* prin impregnare argentică metoda Cater, în corticosuprarenală, gonade, hepatocite şi fibre musculare.

Incluziunile minerale de Fe, Cu, K, Ca, cu aspect de granule pot fi evidenţiate prin metode citochimice. Exemplu, fierul în macrofagele *(siderocite)* din splină, apare sub formă de granule în coloraţii specifice.

Scanned with OKEN Scanner

Incluziunile cristaloide se remarcă în citoplasma celulelor interstiţiale Leydig din testicul, apărând sub formă de cristale fine de diferite forme, numite *cristalele Reinke, al căror rol nu se cunoaşte până în prezent.*

Unele incluzii reprezintă *produşi de elaborare* ai celulelor: *granulele de zimogen* la polul apical al celulelor seroase din pancreas; *granulele de mucigen* la polul apical al celulelor mucoase şi în celulele caliciforme; *hormonii* în celulele glandelor endocrine sau *pigmenţi* (*melanina* în melanocite). Aceştia pot fi puşi în evidenţă prin metode histochimice: *zimogenul* prin colorare cu roşu Magenta, mucusul prin colorare cu mucicarmin sau prin colorarea naturală proprie în cazul pigmenţilor.

Pigmenţii endogeni sunt: carotenoizii, cromolipoizii, pigmenţii melanici, pigmenţii cu nucleu tetrazolic.

Carotenoizii sunt asociaţi cu lipidele şi din această categorie fac parte: *lipocromii* (pigmentul ţesutului adipos la cabaline); *luteina* (din celulele luteale ale corpului luteal din ovarul mamiferelor); *carotenprotidele (caroten-albumina, iodopsina* şi *rodopsina* din celulele cu con şi bastonaş din retină).

Cromolipoizii de culoare brună sau neagră *(lipofuscina)* sunt produşi de dezasimilaţie din neuroni, hepatocite, zona reticulată a corticosuprarenalei, miocard, celulele Leydig; *hemofuscina* întâlnită în focare hemoragice.

Pigmenţii melanici sunt de culoare neagră, brună sau galbenă. Cel mai important este *melanina* în melanocitele pielii, coroidei, proceselor ciliare, iris şi stratul pigmentar al retinei.

Pigmenţii cu nucleu tetrazolic: hemoglobina în hematii; *mioglobina* în muşchi; *hemosiderina* evidentă în celulele sistemului macrofagic monocitar din măduva hematogenă, ficat, pulmon, sistem nervos central etc.

Pigmenţii exogeni. În contact cu mediul extern, animalele încorporează prin aer sau prin furaje, substanţe colorate de diverse origini, care impregnează ţesuturile şi le imprimă devieri de la coloraţia specifică naturală. Impregnarea diferitelor organe şi ţesuturi cu particule de praf (cărbune) dă *antracoza.* Aceasta se întâlneşte la toate speciile, având localizări mai importante în pulmon la carnasiere, în limfonozii bronşici la taurine şi în mucoasa duodenală la păsări. Particulele de cărbune sunt reţinute de macrofagele de la nivelul acestor organe. La animalele din zonele bogate în pulberi de fier, poate fi remarcată *sideroza,* cu localizare predominant pulmonară, iar la oile care pasc pe terenuri cu nisipuri foarte fine, se poate observa *silicoza.* Pentru aceste situaţii sunt responsabile celulele sistemului macrofagic monocitar (SMM). Unele furaje bogate în *caroteni* (morcovul) imprimă o coloraţie gălbuie ţesuturilor şi în special ficatului. Coloraţia se observă mai ales la scroafele gestante care se hrănesc cu cantităţi crescute de morcov. În mod fiziologic, la păsări, în perioada dezvoltării embrionare, se remarcă coloraţia gălbuie a ficatului datorită carotenilor din vitelus.

Scanned with OKEN Scanner

4. NUCLEUL

Este organitul caracteristic celulelor eucariote, având în esenţă două roluri principale: 1) stocarea informaţiei genetice în ADN-ul nuclear; 2) reglarea şi controlul activităţilor celulei. Deci nucleul este centrul coordonator, de comandă şi control al celulei eucariote. Celulele anucleate (hematiile şi plachetele sanguine la mamifere) sunt excepţii, ele fiind incapabile să sintetizeze proteine, iar activităţile lor metabolice sunt foarte restrânse.

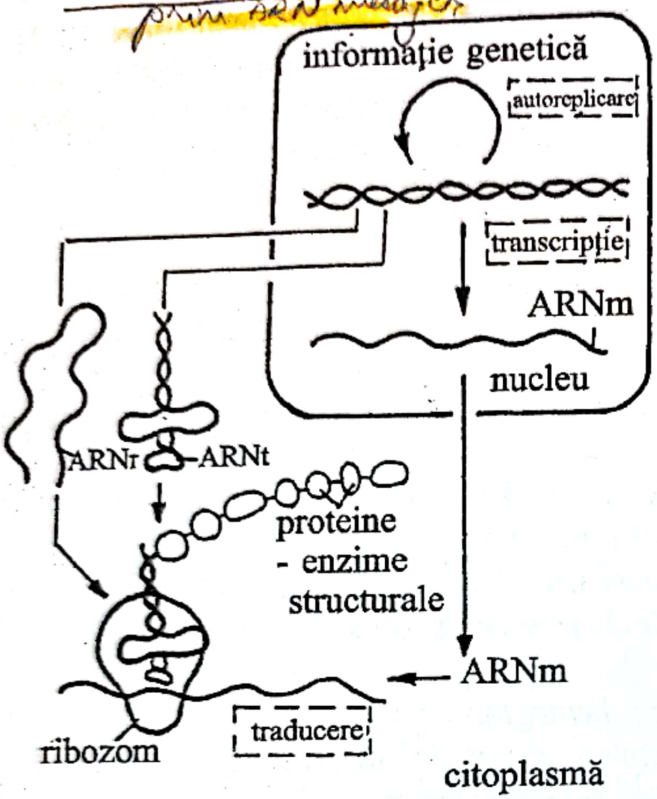


Fig. 4.1. ***Fluxul informaţiei genetice în celula eucariotă***

Descoperitorul nucleului este considerat FONTANA (1781), care a observat o formaţiune ovoidă în celulele epidermice. BROWN (1833) este primul care enunţă conceptul de celule nucleate ca unităţi structurale care intră în alcătuirea plantelor.

Nucleul este alcătuit din: *membrană nucleară (nucleolemă); matrice (nucleoplasmă sau sucul nuclear); cromatină* sau *cromozomi* şi *nucleoli.*

În compoziţia nucleului intră: *ADN, ARN,* două tipuri de proteine *(histone* şi *nehistone);* diferiţi compuşi organici şi compuşi anorganici; lipide şi glucide în cantităţi foarte mici, prezente numai în anumiţi componenţi nucleari.

Nucleul este centrul de comandă şi control, centrul coordonator al celulei eucariote, funcţionând ca un computer chimic, prevăzut cu un program (ADN) şi memorie (ARN). Din schema fluxului informaţional (fig.4.1) rezultă că există trei puncte cheie ale fluxului şi anume: *autoreplicarea ADN, transcripţia ARN* cu formarea de ARN_m (în nucleu) şi *traducerea mesajului în citoplasmă.*

Ca centru informaţional, nucleul coordonează toate reacţiile chimice legate de desfăşurarea proceselor vitale, prin controlul sintezei proteinelor – enzime celulare; organizarea celulei, prin controlul sintezei proteinelor de structură.

4.1. Caracterele morfologice generale

Forma nucleului (fig.4.2). De obicei, „forma nucleului urmăreşte forma celulei" şi de aceea, nucleii apar sub o mare varietate de forme: rotund-ovalar, forma cea mai comună în celulele izodiametrice (ovocit, celule cubice, hepatocit);

Scanned with OKEN Scanner

alungit în celulele fusiforme (leiocit); *turtit* în celulele pavimentoase (*celulele endoteliale, celulele mezoteliale*), în celulele care acumulează incluzii lipidice (adipocite) sau în celulele secretoare de mucus (celule caliciforme); *lobaţi* în celulele care trebuie să se deformeze rapid (neutrofile); *înmugurit* în megacariocitele din măduva osoasă hematogenă. Uneori se sugerează că forma nucleului ar fi influenţată de activitatea celulei, în sensul că, în celulele hiperactive nucleul ar căpăta o formă neregulată. Dat fiind că sfera are suprafaţa cea mai mică pentru un volum dat, neregularitatea nucleului poate fi considerată ca un mijloc de creştere a suprafeţei nucleului, adică a suprafeţei prin care se realizează schimburile dintre nucleu şi citoplasmă.

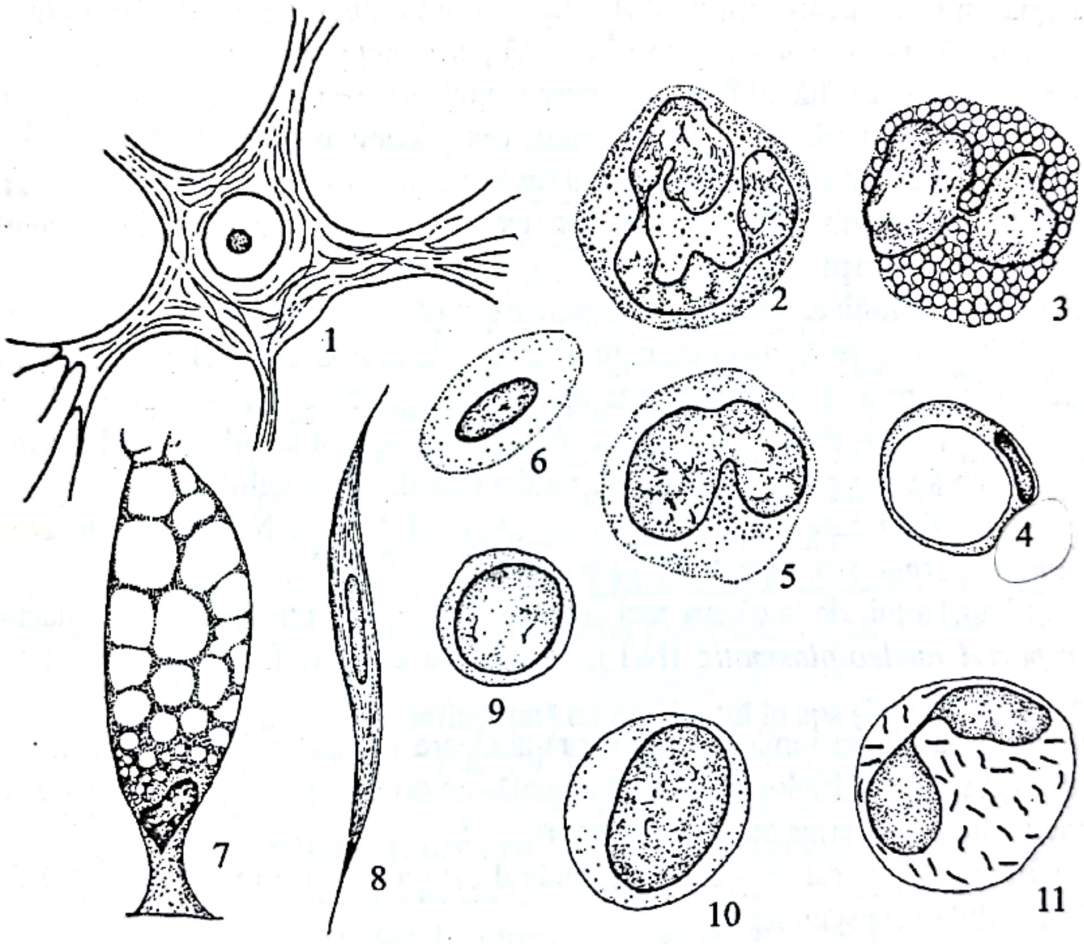


Fig. 4.2. ***Forme de nuclei***: 1-veziculos (neuron); 2-multilobat (neutrofil); 3-bilobat (eosinofil); 4-aplatizat (adipocit); 5-reniform (monocit); 6-elipsoidal (eritrocit pasăre); 7-discoidal (celula caliciformă); 8-bastonaş (lejocit); 9-sferic (limfocit); 10-ovalar (limfocit); 11-bilobat (heterofil de pasăre).

Poziţie. De cele mai multe ori, nucleul ocupă o poziţie centrală (hepatocit) ce poate fi interpretată ca strategică din punct de vedere al rolului său de coordonare a activităţii celulare. Există însă, relativ numeroase excepţii: *nucleu excentric*, în celulele care acumulează incluzii în citoplasmă (adipocite); *nucleu medio-bazal*,

plasat la limita treimii bazale cu cea mijlocie în celulele secretoare seroase din acinul seros al pancreasului exocrin sau din glanda parotidă ; *nucleu bazal*, în celulele secretoare de mucus, celulele caliciforme din epiteliul mucoasei intestinale şi traheale.

Ca regulă generală, în celulele secretoare, deplasarea nucleului se face spre polul opus locului de acumulare şi eliminare a produsului de secreţie.

Număr. De regulă, o celulă – un nucleu. Există însă numeroase excepţii. Exemplul cel mai adesea citat îl constituie hepatocitele care sunt *binucleate* (7-8 % din celule) ; există şi celule cu câţiva nuclei sau câteva zeci de nuclei. În condiţii normale, *osteoclastele* din ţesutul osos au 3-40. Dintre celulele cu câteva sute de nuclei, singurul exemplu îl oferă fibra musculară striată de tip scheletic *(rabdocitul)* considerată un sinciţiu, în care pentru fiecare mm de lungime, există *20-40 nuclei*.

Mecanismele multinuclearităţii se bazează pe două posibilităţi :

- *plasmodiu* rezultă din multiplicarea nucleară repetată *(cariokineză)*, fără diviziunea citoplasmei *(citodiereză)*, (ex. osteoclastul) ;
- *sinciţiu* rezultat din fusionarea mai multor celule mononucleate, cu dispariţia graniţelor membranare intercelulare (ex. rabdocitul, celula Langhans, celulele gigante de corpi străini).

În condiţii patologice, celulele polinucleate sunt :

- *celulele gigante Langhans*, care apar în tuberculoză, având zeci de nuclei ; aceştia sunt dispuşi la periferia citoplasmei, în coroană sau potcoavă ;
- *celule gigante de corpi străini* care se formează în cazul pătrunderii în organism a unor particule străine, nedigerate de către celule.

Dimensiunea. În general, dimensiunea este de *5-15 μm*. Nucleul poate avea *4 μm* la spermatozoid sau *40-50 μm* la ovocit.

Volumul nucleului, de la câteva zeci la 2000 μm^3, este controlat de diferiţi factori : *raportul nucleo/plasmatic* (N/P), activitatea celulei, forma de prezentare a cromatinei.

Determinarea dimensiunilor (volumelor) nucleare *(cariometria)* a fost în citologia clasică şi este în biologia celulară actuală, un domeniu de cercetare foarte activ.

Dimensiunile nucleilor variază în raport cu :

- *vârsta*. În general se admite că nucleul este mai mare în celula tânără decât în celula senescentă ;
- *ritmul zi-noapte* imprimă variaţii semnificative volumelor nucleare. Primele observaţii aparţin lui CASPERSSON, care încă din 1934 a măsurat volumele nucleare ale hepatocitelor la diferite ore ale ciclului zi-noapte şi a găsit diferenţe de circa 20% între zi şi noapte ;
- *gradul de ploidie*. Există o relaţie directă între gradul de ploidie (numărul de seturi cromozomale prezente în nucleu) şi dimensiunile nucleilor ; cu cât gradul de ploidie este mai mare, cu atât nucleul este mai mare.

Două exemple pot fi ilustrate în acest sens : nucleii hepatocitelor şi nucleii megacariocitelor bazofile din măduva osoasă hematogenă.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleii hepatocitelor pot fi împărţiţi în trei categorii :

- *nuclei mici* (diametrul de 10 μm) sunt diploizi (2n) şi reprezintă aproximativ 80 % din populaţia nucleară hepatocitară ;
- *nuclei medii* (diametrul 15 μm) sunt tetraploizi (4n) şi reprezintă 16 % ;
- *nuclei mari* (diametrul 20 μm) sunt octoploizi (8n) şi reprezintă 4%.

Pentru megacariocit, însăşi denumirea înseamnă celulă cu *meganucleu* (nucleu foarte mare).

Totuşi relaţia dintre gradul de ploidie şi dimensiunile (volumul) nucleului nu trebuie absolutizată în sensul unei stricte proporţionalităţi. Mai degrabă, suprafaţa nucleului ar trebui să crească proporţional cu gradul de ploidie. În acest fel, s-ar putea explica de ce nucleul celulelor cu grad mare de ploidie devine de multe ori *„înmugurit"*.

Raportul nucleo-plasmatic. Este raportul volumetric dintre nucleu şi citoplasmă, conform relaţiei :

$$N/P = \frac{V_N}{V_C - V_N}$$; unde V_N – volumul nucleului ;
V_C – volumul celulei ;
$V_C - V_N$ – volumul citoplasmei.

Raportul N/P variază în limite foarte largi *(1/3-1/20)*, cu un raport optim de *1/7-1/10*. În cazul în care volumul citoplasmei creşte, mai mult decât volumul nucleului, raportul N/P va fi refăcut fie prin diviziune celulară, fie printr-o creştere a volumului nuclear. Dacă raportul N/P nu poate fi refăcut, funcţia celulei încetează.

În condiţii patologice, raportul N/P poate fi complet modificat, în special în tumori (cancere) inversarea raportului N/P poate fi caracteristică.

Vâscozitatea sucului nuclear este mai mică decât a citoplasmei, excepţie făcând ovocitul.

Greutatea specifică este influenţată de conţinutul în apă şi de starea fiziologică a celulei, în următoarea ordine : nucleol, cromatină, suc nuclear.

Nucleul are pH alcalin 7,4-7,5. În nucleu există diferenţe de potenţial cu sarcini pozitive în membrană şi negative în nucleoli şi cromozomi.

Nucleul este alcătuit din : *membrană nucleară (nucleolemă)* ; *matrice (nucleoplasmă* sau *sucul nuclear)* ; *cromatină* sau *cromozomi* şi *nucleoli*.

Membrana nucleară (nucleolema)
- dublă, fiecare de 6-10 nm
- cisterna perinucleară 15-30 nm
- complexul por, diametrul intern 50-90 nm
  - două inele (*anuli*) formate din opt granule
  - opt conuri structurate din agregate de fibrile
  - o granulă centrală
  - pachete de filamente nucleoplasmatice

Scanned with OKEN Scanner

Nucleii hepatocitelor pot fi împărţiţi în trei categorii :

- *nuclei mici* (diametrul de 10 μm) sunt diploizi (2n) şi reprezintă aproximativ 80 % din populaţia nucleară hepatocitară ;
- *nuclei medii* (diametrul 15 μm) sunt tetraploizi (4n) şi reprezintă 16 % ;
- *nuclei mari* (diametrul 20 μm) sunt octoploizi (8n) şi reprezintă 4%.

Pentru megacariocit, însăşi denumirea înseamnă celulă cu *meganucleu* (nucleu foarte mare).

Totuşi relaţia dintre gradul de ploidie şi dimensiunile (volumul) nucleului nu trebuie absolutizată în sensul unei stricte proporţionalităţi. Mai degrabă, suprafaţa nucleului ar trebui să crească proporţional cu gradul de ploidie. În acest fel, s-ar putea explica de ce nucleul celulelor cu grad mare de ploidie devine de multe ori *„înmugurit"*.

Raportul nucleo-plasmatic. Este raportul volumetric dintre nucleu şi citoplasmă, conform relaţiei :

$$N/P = \frac{V_N}{V_C - V_N}$$; unde V_N – volumul nucleului ;
V_C – volumul celulei ;
$V_C - V_N$ – volumul citoplasmei.

Raportul N/P variază în limite foarte largi *(1/3-1/20)*, cu un raport optim de *1/7-1/10*. În cazul în care volumul citoplasmei creşte, mai mult decât volumul nucleului, raportul N/P va fi refăcut fie prin diviziune celulară, fie printr-o creştere a volumului nuclear. Dacă raportul N/P nu poate fi refăcut, funcţia celulei încetează.

În condiţii patologice, raportul N/P poate fi complet modificat, în special în tumori (cancere) inversarea raportului N/P poate fi caracteristică.

Vâscozitatea sucului nuclear este mai mică decât a citoplasmei, excepţie făcând ovocitul.

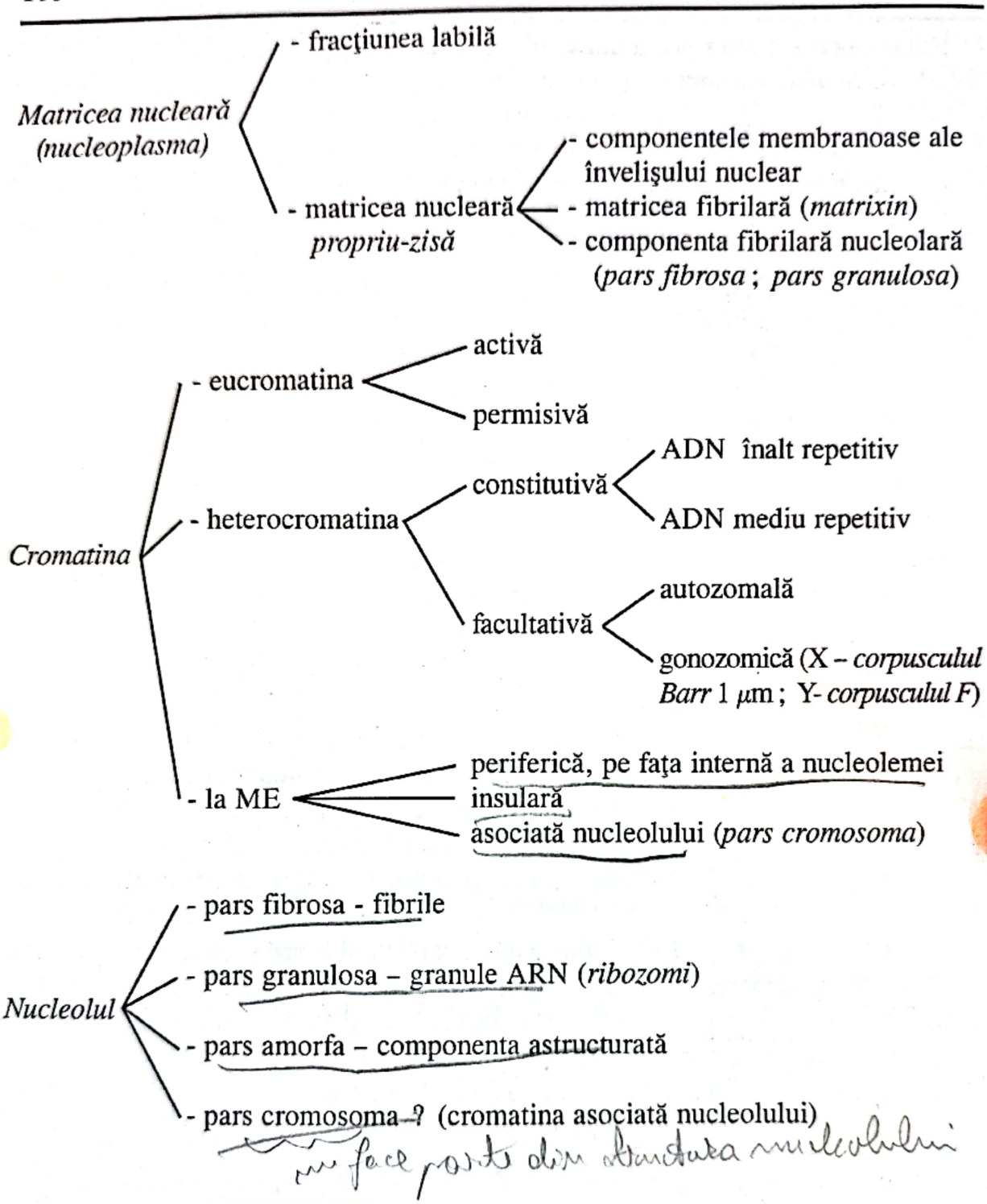
Greutatea specifică este influenţată de conţinutul în apă şi de starea fiziologică a celulei, în următoarea ordine : nucleol, cromatină, suc nuclear.

Nucleul are pH alcalin 7,4-7,5. În nucleu există diferenţe de potenţial cu sarcini pozitive în membrană şi negative în nucleoli şi cromozomi.

Nucleul este alcătuit din : *membrană nucleară (nucleolemă)* ; *matrice (nucleoplasmă* sau *sucul nuclear)* ; *cromatină* sau *cromozomi* şi *nucleoli*.

Membrana nucleară (nucleolema)
- dublă, fiecare de 6-10 nm
- cisterna perinucleară 15-30 nm
- complexul por, diametrul intern 50-90 nm
  - două inele (*anuli*) formate din opt granule
  - opt conuri structurate din agregate de fibrile
  - o granulă centrală
  - pachete de filamente nucleoplasmatice

Scanned with OKEN Scanner



4.2. Membrana nucleară (nucleolema)

Este o peliculă fină, cu indice de refracţie mai mare decât al masei nucleului şi care se colorează bazofil. Vizibilitatea cromatică se datoreşte agregării componentelor carioplasmei care, sub acţiunea coagulantă a fixatorilor, se depozitează pe faţa internă a membranei.

La microscopul electronic, nucleolema este formată din două foiţe (externă şi internă), fiecare trilaminată, lipoproteică, groasă de 6-10 nm şi separate printr-un

spaţiu perinuclear (*cisterna perinucleară*) de 15-30 nm, umplut cu o substanţă amorfă (fig. 4.3). Membrana are pe faţa citoplasmatică ataşaţi ribozomi, are un contur mai flexibil şi prezintă zone active de formare a veziculelor (fig. 4.4). Membrana internă prezintă adeseori pe faţa sa nucleară, ataşată strâns, fie cromatina (*cromatina periferică*), fie *lamina densa* (o diferenţiere a matricei nucleare).

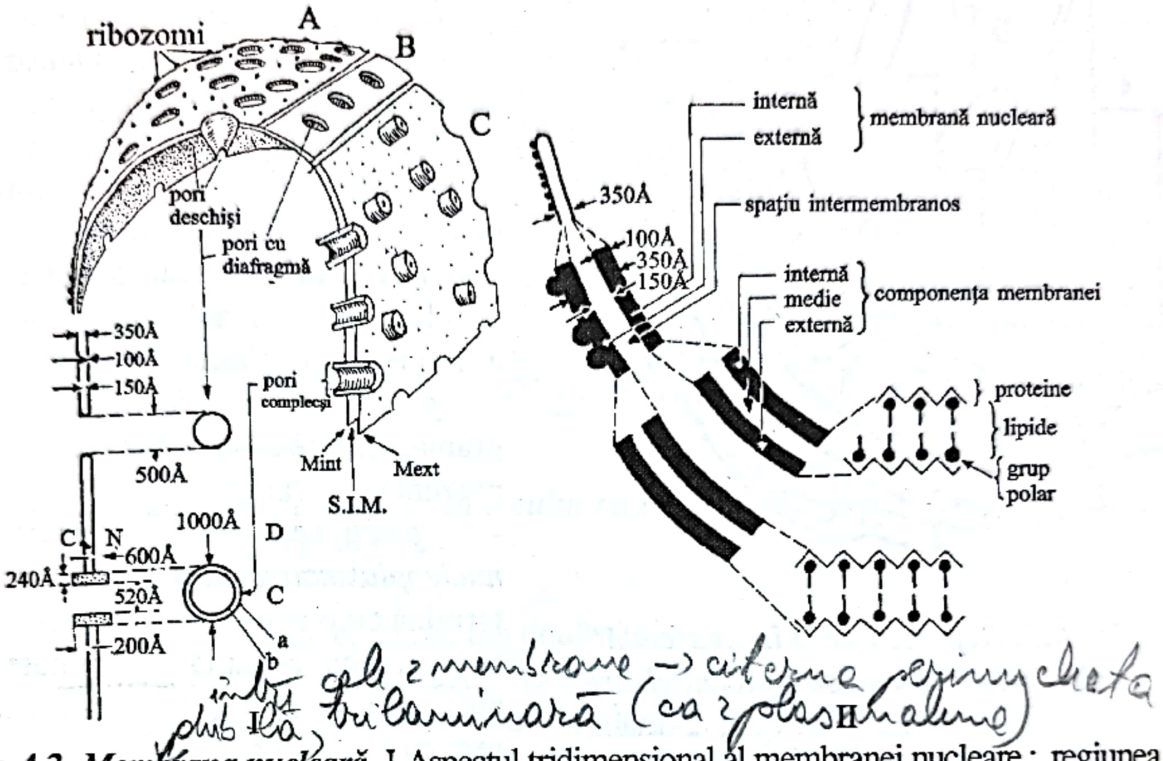


Fig. 4.3. ***Membrana nucleară.*** I-Aspectul tridimensional al membranei nucleare : regiunea A-pori deschişi ; regiunea B- pori cu diafragmă ; regiunea C-pori complecşi ; D-structura porului complex ; a-anul ; b-subanul ; II-Structura elementară a membranei nucleare.

Cisterna perinucleară este în comunicare cu activităţile reticulului endoplasmatic (fig. 4.5).

În spaţiul perinuclear s-au pus în evidenţă proteine, enzime, Ca^{2+}. Între componentele nucleului şi REG, există relaţii strânse în vederea sintezei proteinelor în citoplasmă (fig. 4.6).

Din loc în loc, cele două membrane nucleare se află în raporturi de continuitate, delimitând orificii

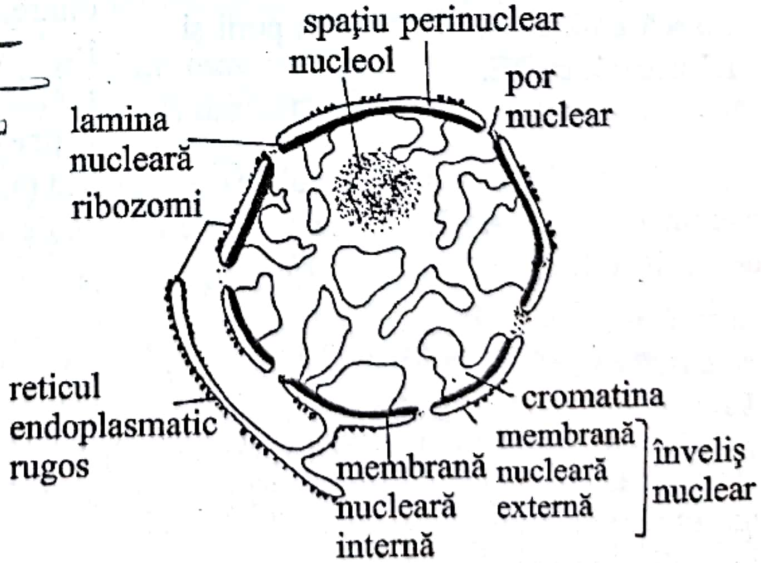


Fig. 4.4. ***Structura nucleului***

Scanned with OKEN Scanner

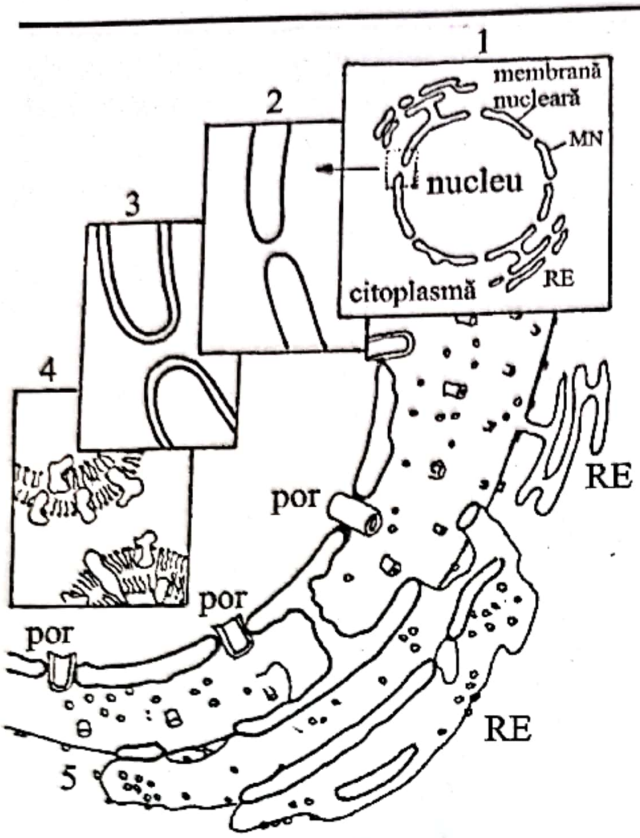


Fig. 4.5. ***Reprezentarea în „cascadă" tridimensională a membranei nucleare (MN)*** : 1-relaţiile MN cu RE ; 2-detaliu la ME, putere măritoare mică ; 3-detaliu la ME, putere măritoare mare ; 4-organizarea moleculară a MN conform modelului mozaic-fluid ; 5-reprezentare tridimensională a ultrastructurii MN cu porii şi relaţiile sale cu RE.

circulare denumite *pori* (fig. 4.7). Porul împreună cu materialul anular adiacent constituie aşa-numitul *complex por* (fig.4.8). Diametrul intern al orificiului porului este de 50-90 nm. Complexul por cuprinde :

- *două inele* sau *anuli*, aşezate pe ambele feţe ale porului (nuclear şi citoplasmatic), fiecare fiind compus din opt *granule inelare* cu diametrul de 10-25 nm care sunt aşezate în formă de octagon perfect simetric ;
- *opt conuri* orientate dinspre peretele porului către lumenul său considerate a fi agregate de fibrile ;
- *o particulă centrală* în formă de granulă sau de bastonaş, care nu este prezentă constant ;
- *pachete de filamente nucleoplasmatice* de 4-8 nm, care se termină cu o extremitate pe inelul intern, iar cu cealaltă extremitate se ancorează cu formaţiuni intranucleare (ex. cu nucleolul).

Membrana nucleară separă conţinutul nucleului de cel al citoplasmei, reglează schimburile dintre nucleu şi citoplasmă. Are rol în formarea şi organizarea membranelor RE (fig. 4.9). Ea reprezintă rezerva sistemului citomembranelor celulare în celulele care se divid rapid. Nucleolema joacă un rol în menţinerea cromatinei, care uneori este ataşată de foiţa sa internă, cunoscută sub denumirea de *cromatină periferică*.

4.3. Matricea nucleară (nucleoplasma, sucul nuclear)

Este denumirea atribuită scheletului de natură proteică care înglobează cromatina şi nucleolii şi care se sprijină pe membrana internă a nucleolemei. Ea are un rol esenţial în organizarea nucleului şi este implicată în sinteza ADN sau ARN, în medierea semnalelor hormonale şi în alte funcţii nucleare.

Scanned with OKEN Scanner

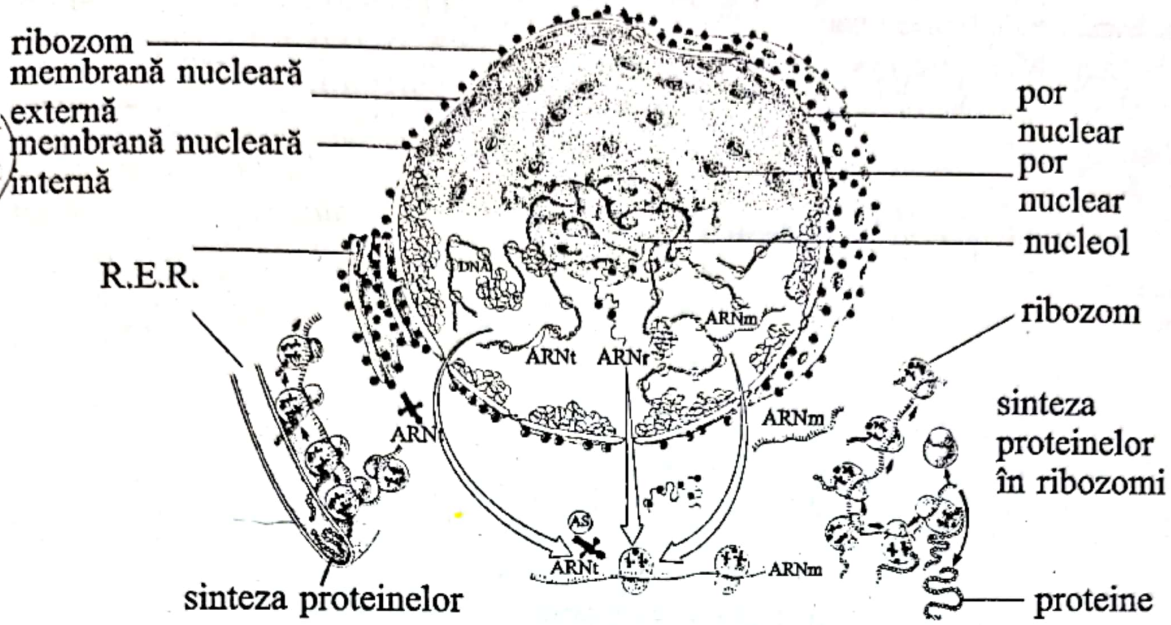


Fig. 4.6. ***Relaţia componentelor nucleului cu REG şi ribozomii în vederea sintezei proteinelor*** *(Liebich, 1999)*

Matricea nucleară este compusă din două părţi :

- *matricea nucleară propriu-zisă,* reprezentată de scheletul sau reţeaua proteică formată dintr-o reţea de proteine stabile cu greutate moleculară mare, ce se poate izola după extragerea cromatinei şi a nucleolului ; ar fi echivalentul nuclear al citoscheletului ;
- *fracţiunea labilă* a matricei, care este legată lax de matricea propriu-zisă dar interacţionează cu nucleolul şi cromatina.

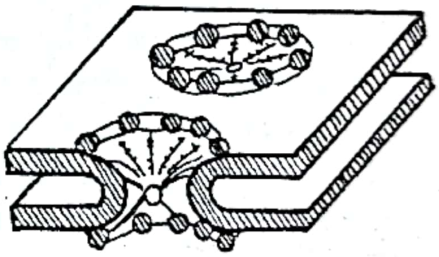


Fig. 4.7. *Diagrama complexului por*

În fracţiunea labilă se găsesc o serie de proteine solubile, cu greutăţi moleculare mici, enzime, ATP, ioni şi apă.

Matricea nucleară propriu-zisă (scheletul nuclear) este formată din trei componente :

a) componentele membranoase ale învelişului nuclear, formate din *lamina densa* (lamina fibrosa) internă şi *complexul por.* Lamina densa internă se află pe faţa nucleară a membranei interne din învelişul nuclear. Se prezintă sub forma unei reţele fibrilare conexate la reţeaua matricei nucleare, precum şi la componentele fibrilare ale complexului por. Toate acestea conţin : 2-3% din totalul proteinelor din nucleu ; enzima *nucleozid-trifosfataza,* implicată în transportul ARN către citoplasmă ; ADN 3% ; ARN 2% şi un procent mic de fosfolipide.

Scanned with OKEN Scanner

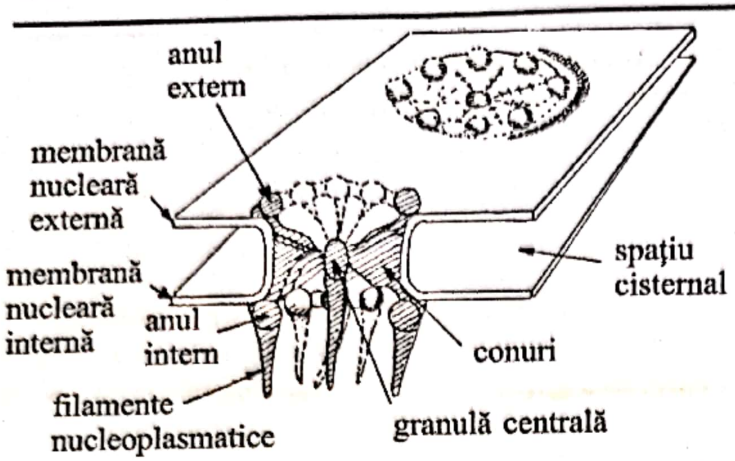


Fig. 4.8. ***Reprezentarea schematică a „complexului por" nuclear.*** Anulul intern şi extern sunt fiecare compuse din opt granule

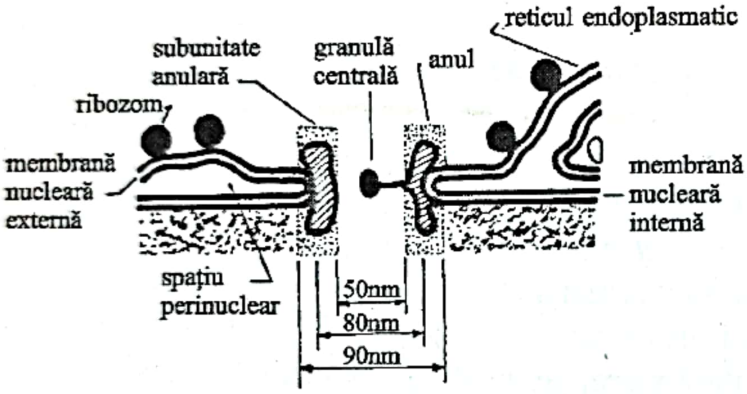


Fig. 4.9. ***Structura porului nuclear.*** Relaţiile nucleolemei cu RE şi ribozomii

b) matricea fibrilară sau reţeaua fibrilară intranucleară şi pericromatiniană care apare ca o reţea în toată masa nucleului. Este formată din granule cu diametrul de 15-20 nm şi *pachete dense de fibrile matriceale,* fiecare fibrilă cu diametrul de 5 nm. Aceste fibrile matriceale se mai numesc *matrixin*. Matricea fibrilară conţine proteine (20 % din totalul proteinelor nucleare), ADN 1,2 %, ARN 0,5 % şi fosfolipide în cantitate redusă.

c) componenta fibrilară nucleolară este formată dintr-o reţea de filamente ce se întind pe toată aria ce corespunde la *pars fibrosa* şi *pars granulosa* din nucleol. Este formată din polipeptide şi ar avea rol de suport pentru depozitarea granulelor ribozomale.

Matricea nucleară este o structură dinamică, prezentând contractilitate dependentă de cationii bivalenţi (Ca^{2+}, Mg^{2+}) şi *nu de ATP.* Volumul nuclear se poate modifica prin variaţiile de concentraţie ale cationilor bivalenţi, dar şi ale ionilor monovalenţi (Na^+, K^+).

4.4. Cromatina

Cromatina este o noţiune citologică (nu chimică). Ea este materialul biologic intranuclear care se colorează cu coloranţi bazici, cromatina este deci *bazofilă*. Cromatina reprezintă ceea ce se vede la microscop din cromozomii în interfază, deoarece cromozomii există ca entităţi fizice în nucleul interfazic, dar ei nu pot fi identificaţi ca atare. Cromatina şi cromozomii sunt două forme de organizare ale unuia şi aceluiaşi material genetic (ADN); *cromatina este forma de existenţă interfazică,* iar *cromozomii sunt forma de existenţă în timpul diviziunii.*

Scanned with OKEN Scanner

Cromatina (cromozomii) este alcătuită în principal din ADN şi *proteine histonice.* Pe lângă acestea mai conţine şi mici cantităţi de ARN şi proteine nehistonice.

Cantitatea de ADN conţinută în genomul unei specii este denumită *valoarea C.* Specificitatea de specie a cantităţii de ADN din nucleu este dată de numărul şi dimensiunile moleculelor de ADN din acel nucleu. Numărul cromozomilor este caracteristic pentru o specie, deoarece cantitatea de ADN este specifică fiecărei specii.

Histonele sunt proteine bazice, existente numai în *genomul eucariotelor.* Etimologic, termenul histone sugerează prezenţa lor în ţesuturi (nuclei). În prezent, se foloseşte o clasificare a histonelor în cinci tipuri (după conţinutul lor în arginină şi lizină) : H_1, H_{2A}, H_{2B}, H_3 şi H_4. Fiecare tip are şi subtipuri. Histonele au *masă moleculară mică ;* sunt *puternic bazice* datorită conţinutului mare (10-20 %) în aminoacizi bazici (*lizina* şi *arginina*) *purtători de sarcini pozitive,* ceea ce explică legarea lor de ADN *(sarcinile negative ale grupărilor fosfat)* şi sunt proteine cu o evoluţie filogenetică moleculară definitivă.

Funcţia majoră a histonelor constă în împachetarea ADN-ului în nucleu, adică organizarea supramoleculară a ADN-ului sub formă de *nucleozomi.* În cursul ciclului celular, histonele sunt supuse unor modificări chimice, care în esenţă constau în : acetilare, metilare, fosforilare.

Protaminele sunt echivalentul histonelor, dar numai în cazul spermatozoidului. Au greutate moleculară foarte mică (4200), cu o lungime medie de numai 33 aminoacizi şi *foarte bazice,* bogate în arginină, ce reprezintă 60 % din reziduurile aminoacide. În cursul spermiogenezei, trecerea de la spermatidă la spermatozoid, protaminele înlocuiesc histonele. Datorită protaminelor cromatina din nucleu (capul spermatozoidului) este extrem de condensată şi virtual inactivă. Compactarea cromatinei din nucleul spermatozoidului este un fenomen esenţial pentru acomodarea ADN-ului într-un volum foarte mic, cum este cel al capului spermatozoidului.

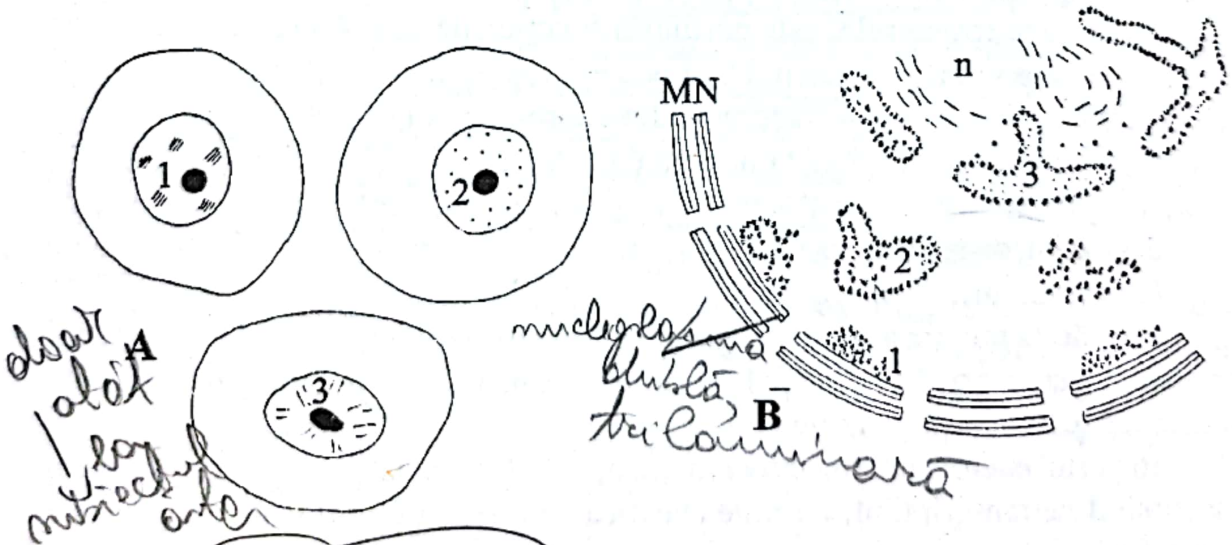


Fig. 4.10. *Cromatina* : A-la MO (1-cruste ; 2-granulaţii fine ; 3-nervuri) ; B-la ME (1-periferică ; 2-insulară ; 3-asociată nucleolului (n) ; MN-membrana nucleară

Cromatina este formată din filamente de ADN complexat cu proteine (histone). Cromatina se colorează intens cu coloranţi bazici (hematoxilină, albastru de tripan) datorită conţinutului mare de ADN. Aspectul cromatinei la microscopul optic este variat: *granule, grămezi neregulate (cruste), reţele de filamente (nervuri)* (fig. 4.10). Morfologia sa variată este dependentă de tipul de celulă şi stadiul funcţional al nucleului.

Cromatina este alcătuită din filamente răsucite *(cromoneme)* care reprezintă structura elementară a cromozomilor. Răsucirea în spirală determină la nivelul cromonemei, zone mai dense, intens colorate bazofil *(heterocromatina)* care alternează cu zone mai puţin dense, mai palid colorate bazofil (*eucromatina*). Aceşti termeni au fost introduşi de HEITZ (1928).

Eucromatina (gr. *eucromatina* = cromatină adevărată) este cromatina necondensată, transcriptibilă, metabolic activă şi poate fi folosită pentru sinteza de ARN.

Heterocromatina (gr. *heterocromatina* = altă cromatină) *este cromatina condensată, netranscriptibilă, inactivă metabolic.*

Din punct de vedere al compoziţiei biochimice, între heterocromatină şi eucromatină nu există deosebiri, ceea ce diferă este gradul de spiralizare, împachetare. Enzima responsabilă de transcripţia mesajului genetic, biogeneza ARN_h (ARN heterogen) este *ARN polimeraza II.*

Eucromatina este accesibilă ARN-polimerazei II pentru transcripţie în timp ce heterocromatina nu permite accesul enzimei pentru transcripţie. Deci, numai genele din eucromatină se exprimă, deoarece, numai eucromatina poate fi transcrisă. De aceea, raportul celor două tipuri de cromatină, intensitatea coloraţiei cromatinei în nucleu, variază în funcţie de activitatea metabolică a celulelor respective. Dacă predomină eucromatina (deci nucleul este *hipocrom*), înseamnă că nucleul este foarte activ metabolic (*nucleul neuronului*). Dacă predomină heterocromatina, înseamnă că este relativ inert metabolic *(nucleul eritrocitului la pasăre)*. Eucromatina este purtătoare de gene structurale, este porţiunea funcţională activă a cromatinei; este cromatina pe care se face transcripţie, şi poate fi:

a) eucromatină activă – fracţiunea din eucromatină pe care se face continuu transcripţie şi asigură viaţa normală a celulei;

b) eucromatină permisivă – fracţiunea din eucromatină potenţial activă, ce devine imediat activă, ca urmare a acţiunii unor semnale specific modulatoare (ex. hormoni).

Adevărata reglare a expresiei genetice se realizează pe eucromatină. Agenţii represori şi depresori, în principal proteinele nehistonice, trebuie să-şi exercite acţiunea lor reglatoare pe eucromatină.

Raportul eucromatină-heterocromatină, care funcţional poate fi exprimat prin transcriptibil-netranscriptibil, permite clarificarea dilemei tradiţionale citogenetice genotip-fenotip, în care se opun două noţiuni:

- *genotipul,* totalitatea materialului genetic, este cromatina interfazică (eucromatina + heterocromatina);

Scanned with OKEN Scanner

- *fenotipul,* ca expresie a genotipului, complexul de trăsături exprimate din ceea ce este înscris în genotip, este ceea ce se transcrie din *eucromatină* în interfază.

Heterocromatina poate fi *constitutivă* şi *facultativă.*

Heterocromatina constitutivă este o cromatină constant condensată în interfază. Ea este *genetic inactivă, nu conţine gene structurale* şi pe ea *nu se face niciodată transcripţie*. Conţine aşa-numitul ADN *repetitiv* sau *satelit* care este un ADN în care scurte secvenţe nucleotidice sunt repetate de un număr foarte mare de ori. La mamifere se susţine că ADN repetitiv ar reprezenta 15 % din cantitatea totală de ADN. Se descriu două forme de ADN repetitiv :

- ADN *înalt repetitiv* (10 %) în care secvenţele se repetă de sute de mii de ori ;
- ADN *mediu repetitiv* (5 %) în care secvenţele se repetă de 100, până la zeci de mii de ori.

Localizarea heterocromatinei constitutive este identică pe cromozomii omologi, de regulă în *imediata vecinătate a centromerului*. Localizarea heterocromatinei constitutive poate fi detectată prin *tehnica de bandare „C"* a cromozomilor.

Se sugerează că heterocromatina constitutivă ar determina specificitatea centromerică, poziţia centromerului în cromozomi.

Heterocromatina facultativă este o cromatină condensată, care conţine gene structurale ce sunt represate (inactive), adică nu se face transcripţie pe ele. Ea este de două feluri, în funcţie de tipul de cromozom căruia îi corespunde :

- *autozomală,* corespunde porţiunilor condensate heterocromatice din perechile de *autozomi* ;
- *gonozomică* (*cromatina X* la femelă şi *cromatina Y* la mascul).

Cromatina X a fost descrisă pentru prima dată de BARR şi BERTRAM (1949) în nucleii neuronilor din ganglionul hipoglos de pisică, sub denumirea de *corpusculul Barr* (satelit nucleolar). Este prezent în mod normal, numai în nucleii celulelor somatice ale femelelor şi reprezintă condensarea interfazică a unuia din cei doi cromozomi X. Această inactivare prin condensare (transformarea eucromatinei în heterocromatină facultativă) are o importanţă deosebită. Dacă ar fi activi (transcripţionabili) în continuare ambii gonozomi X, atunci la femelă ar trebui să existe o cantitate dublă de enzime, controlate de gene structurale situate pe cromozomul X (ex. fosfoglicerat-kinaza, alfa-galactozidaza).

Dimensiunea – aproximativ 1 μm.

Forma : corpusculul Barr apare plan-convex, biconvex sau triunghiular.

Poziţia este în funcţie de tipul celular, corpusculul Barr putând fi localizat în nucleu, fie adiacent membranei nucleare interne sub denumirea de corpuscul cromocentric (ex. în celulele mucoasei bucale sau epidermei), fie ataşat nucleolului (satelit nucleolar) în celulele nervoase (fig. 4.11).

Scanned with OKEN Scanner

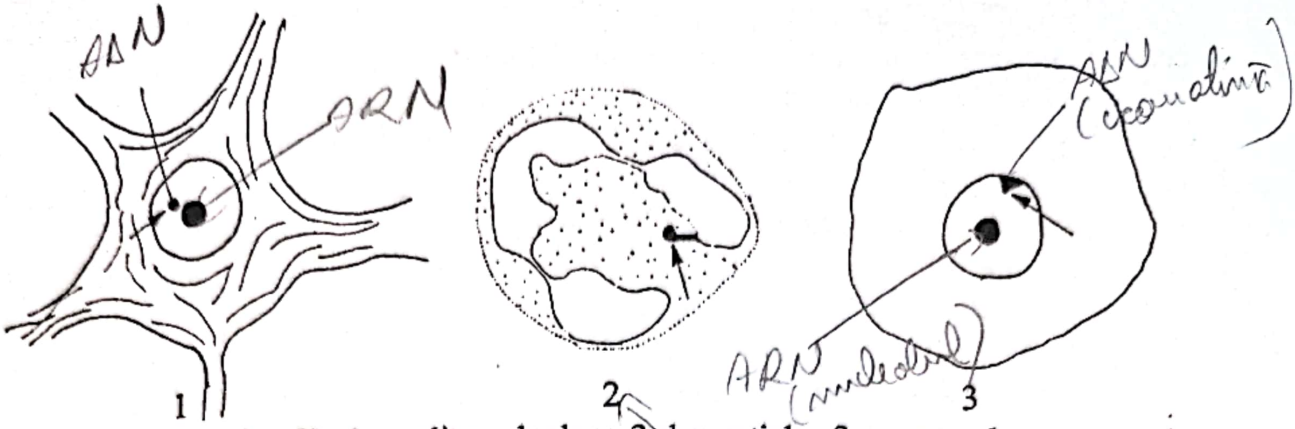


Fig. 4.11. *Cromatina X*: 1-satelit nucleolar; 2-drumstick; 3-corpuscul cromocentric

În neutrofile se evidenţiază aşa-zisul „băţ de tobă" *(drumstick)* echivalent al corpusculului Barr, ce apare rotund-ovalar, constituit dintr-un *„cap"* cu diametrul de 1,5 μm, ataşat printr-un *pedicul* (filament) subţire de unul din lobii nucleului.

Cromatina Y (corpusculul F). În lumina ultravioletă, după colorare cu fluorocrom, se poate observa în nucleul celulelor provenite de la masculii normali, un corpuscul intens fluorescent denumit corpusculul F. El a fost descoperit în 1970 de către PEARSON şi este expresia citologică a cromozomului Y. Serveşte la diagnosticul unor anomalii cromozomiale, cum este de pildă prezenţa a doi cromozomi Y.

4.4.1. Cromozomii

În timp ce celula se pregăteşte pentru diviziune, în nucleoplasmă devin progresiv vizibile la microscopul optic nişte filamente lungi. Ele au o mare afinitate pentru coloranţii bazici şi din acest motiv se numesc *cromozomi* (gr. *croma* = culoare; *soma* = corp; corpii coloraţi). Din punct de vedere al posibilităţii de a fi observaţi la microscopul optic, cromozomii pot fi clasificaţi în (fig. 4.12):

- *interfazici,* necondensaţi şi de aceea neobservabili la microscop;
- *mitotici,* condensaţi şi de aceea uşor observabili la microscop. Cromozomii pot fi studiaţi microscopic cel mai bine în cursul metafazei, aşa-numiţii cromozomi metafazici. Principalele structuri ale cromozomilor metafazici sunt: cromatidele; centromerul; constricţia primară; kinetocorii, constricţiile secundare; sateliţii (fig. 4.13).

În faza G_1 a ciclului celular, cromozomul este monocromatidian, iar în faza G_2 este bicromatidian, datorită replicării ADN-ului în faza S a ciclului celular.

Cromatidele. Fiecare cromozom metafazic este format din două jumătăţi longitudinale, genetic identice, reprezentând câte o cromatidă. Fiecare cromatidă corespunde unei molecule de ADN.

Extremităţile terminale ale cromatidelor se numesc *telomere,* care nu trebuie considerate ca „simple capete" pentru că ele sunt indispensabile pentru structura şi

Scanned with OKEN Scanner

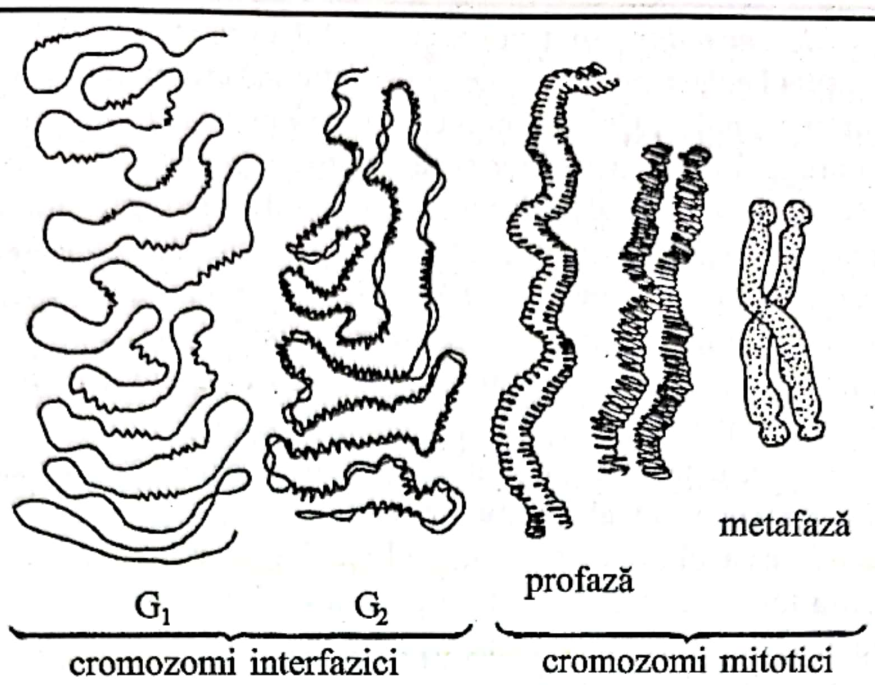


Fig. 4.12. ***Cromozomii interfazici (necondensaţi) şi cromozomii mitotici (condensaţi)***

funcţia normală a cromozomilor. Telomerele previn fuzionarea cromozomilor, deci păstrează individualitatea lor şi menţin o anumită ordine a cromozomilor interfazici în interiorul nucleului prin asocierea lor la membrana nucleară internă.

Centromerul (constricţia primară) este locul de unire a cromatidelor, reprezentând talia subţire din silueta cromozomului. Este o regiune cu conţinut scăzut în ADN, de aceea este slab colorabilă sau acromatică. Regiunea centromerică nu este colorată de coloranţi bazici folosiţi pentru evidenţierea cromozomilor, reacţia Feulgen pentru ADN fiind negativă la acest nivel. Această absenţă a colorării zonei centromerice determină apariţia unei ştrangulări a cromatidelor, cunoscută sub denumirea de *constricţie primară*. De regulă, centromerul este învecinat cu heterocromatina constitutivă. Structura fiecărui cromozom este simetrică faţă de un plan care trece prin centromer, plan paralel cromatidelor. Majoritatea cromozomilor sunt *monocentrici* (au un singur centromer). În anomaliile cromozomiale există cromozomi *dicentrici* (cu doi centromeri) sau *policentrici* (cu mai mulţi centromeri).

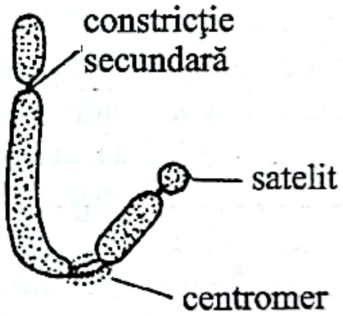


Fig. 4.13. ***Diagrama unui cromozom indicând centromerul, constricţia secundară şi satelitul***

Kinetocorii. Fiecare centromer are doi kinetocori, respectiv fiecare cromatidă are un kinetocor ca loc de ataşare pentru microtubulii de jumătate de fus ai fusului de diviziune. La ME, kinetocorul apare de forma unui disc cu dimensiunile de 5/25 nm.

Scanned with OKEN Scanner

Constricţiile secundare sunt zone la nivelul cromatidelor care nu reţin colorantul bazic, sunt Feulgen negative, acestea constituind criterii de individualizare morfologică a cromozomilor. Cromozomii care au asemenea constricţii secundare sunt implicaţi în organizarea nucleolilor şi se numesc *organizatori nucleolari.*

Satelitul este un corp rotund cu diametrul egal cu al cromozomului sau mai mic, legat de restul cromozomului printr-un filament subţire de cromatină, cu lungime variabilă. Astfel de cromozomi se numesc *cromozomii SAT* (Sine-acido-timo-nucleic).

După poziţia centromerului, cromozomii se clasifică în :

- *metacentrici,* la care centromerul este plasat la mijlocul cromozomului şi astfel braţele sunt egale ;
- *submetacentrici,* când centromerul este situat în vecinătatea punctului median, mai aproape sau mai departe de el ;
- *acrocentrici,* în cazul în care centromerul este localizat în regiunea subterminală, în aşa fel încât braţele scurte sunt abia vizibile.

Cromozomii *telocentrici,* cu centromerul terminal nu pot exista, deoarece nu sunt stabili. De obicei aceştia sunt *acrocentrici,* la care braţele scurte nu se observă la MO.

Dimensiunile cromozomilor sunt cuprinse între 0,2-5 μm lungime şi 0,2-2 μm diametru. Există şi excepţii : *cromozomi giganţi* şi *cromozomi pitici.*

Numărul cromozomilor variază în raport cu specia, fiind totdeauna acelaşi pentru aceeaşi specie : omul 46, câinele 78, pisica 38, catârul 63, porcul 38, oaia 54, boul 60 etc.

Celulele sexuale (gameţii) conţin un singur set de cromozomi notat cu *„n"*, numindu-se celule *haploide (haplos = simplu),* în timp ce celulele somatice cuprind seturi de cromozomi (o garnitură maternă şi una paternă), notate cu *„2 n"* şi se numesc celule *diploide (diplos = dublu).* Fiecare cromozom dintr-un set are în setul opus, un cromozom complementar, identic, structurat morfologic şi genetic, alcătuind împreună perechile de cromozomi *omologi (autozomi).* Numărul de 60 cromozomi ai taurinelor se împart în două categorii : 58 cromozomi autozomi (29 perechi) şi 2 *cromozomi de sex (heterocromozomi)* care determină sexul. Astfel, în celulele somatice, la vacă există 2 cromozomi X, pe când la tauri există un cromozom X şi unul Y. Formula cromozomială este, deci, la vacă 60, XX şi la taur 60, XY. În formula cromozomială, prima cifră indică numărul total de cromozomi, după virgulă fiind indicaţi cromozomii de sex. Fiecare din cele 29 perechi de autozomi este formată din 2 cromozomi omologi, adică cromozomi cu aceeaşi morfologie şi aceeaşi dispoziţie a genelor. Spre deosebire de aceştia, cromozomii de sex nu sunt omologi. La taur, diferenţa între cromozomul X şi Y este clară, cel Y fiind un cromozom submetacentric mic. La vacă cei doi cromozomi X submetacentrici nu sunt omologi, deoarece numai unul este activ genetic, celălalt este inactiv şi rămâne condensat în interfază, formând *cromatina sexuală X (corpusculul Barr).* Diferenţierea celor doi cromozomi X într-unul activ şi altul inert genetic se face într-un stadiu precoce al dezvoltării embrionare. Totalitatea caracterelor morfologice (număr, mărime, formă,

Scanned with OKEN Scanner

poziţia centromerului, constricţiile ş.a.) ale cromozomilor celulelor diploide, alcătuiesc *cariotipul*. Acesta poate fi reprezentat printr-o hartă numită *cariogramă* sau *idiogramă*. Cariotipul se obţine prin fotografierea cromozomilor metafazici, obţinuţi din metafazele culturilor de limfocite, stimulate în diviziune cu *fitohemaglutinine* şi apoi blocată diviziunea în metafază prin adaos de *colchicină* (un alcaloid ce blochează asamblarea fusului de diviziune, deoarece se fixează pe dimerii de tubulină alfa şi beta). Din fotografiile cu metafazele reuşite, unde cromozomii sunt dispersaţi, se decupează cromozomii şi se aranjează în cariotip. În acest fel se pot identifica grupele de cromozomi, dar nu este posibilă precizarea cu certitudine a fiecărei perechi. Aceasta se poate face prin *tehnicile de bandare,* tehnici speciale care permit punerea în evidenţă a unor benzi transversale în lungul cromozomilor şi care sunt caracteristice pentru fiecare cromozom. Tehnicile de bandare a cromozomilor pot fi împărţite în două categorii :

- *tehnici cu fluorescenţă,* prin care se obţin benzile „Q" (de la *quinacrine*) fluorescente, care se obţin prin colorare cu derivaţi chinacrinici fluorescenţi, se observă numai la microscopul cu fluorescenţă ;
- tehnici bazate pe tratarea cromozomilor cu diferiţi agenţi fizici şi chimici urmată de *coloraţia Giemsa,* prin care se evidenţiază trei feluri de benzi : *benzile G* (Giemsa) care apar intens colorate şi corespund benzilor fluorescente „Q" ; *benzile R (reverse bands)* au dispoziţie inversă benzilor G şi Q, adică benzile intens colorate R corespund benzilor G palide ; *benzile C* sunt situate numai în regiunea centromerică a cromozomilor.

Terminologia benzilor şi dispoziţia lor pe fiecare cromozom au fost standardizate la majoritatea animalelor domestice şi de laborator.

4.4.1.1. Compoziţia chimică, ultrastructura şi organizarea moleculară a cromozomilor eucariotici

Cromozomii sunt alcătuiţi din ADN, proteine (histonice şi nehistonice) şi puţin ARN.

Histonele sunt o clasă de proteine cu greutate moleculară mică (10000-20000), puternic bazice datorită conţinutului mare (10-20 %) de aminoacizi bazici (*lizina* şi *arginina*) purtători de sarcini pozitive, ceea ce explică legarea lor de ADN (sarcinile negative ale grupărilor fosfat). După conţinutul lor în lizină şi arginină la eucariote, histonele se împart în 5 clase : H_1, H_{2A}, H_{2B}, H_3 şi H_4. Histonele din clasa H_1 se deosebesc de celelalte clase, prin faptul că secvenţa aminoacizilor la diferite specii este variabilă.

Proteinele nehistonice sunt *proteine* ce intră în structura cromozomilor sau care se leagă de ADN intervenind în exprimarea genelor, şi enzime de sinteză a ADN-ului şi ARN-ului sau de scindare a lor (*dezoxiribonucleaze* şi *ribonucleaze*). Proteinele ce reglează exprimarea genelor apar într-un exemplar la 3000 *nucleozomi*. Alte proteine nehistonice sunt însă mai abundente. Astfel, printre acestea se include *grupul de proteine cu mobilitate mare (proteinele HMG, „high-mobility group")*.

Scanned with OKEN Scanner

Din acest grup, proteinele HMG_{14} şi HMG_{17} se găsesc în toate celulele de la mamifere şi se leagă de nucleozomii asociaţi cu genele active.

ARN-ul este o componentă minoră a cromozomilor şi este reprezentat în majoritate de ARN-ul „nascent", adică cel care se formează pe matriţa de ADN în cursul procesului de transcriere.

ADN-ul şi histonele se împachetează în cromozomi sub formă de *nucleozomi*, care reprezintă forma de organizare a *complexului ADN-histone*.

Împachetarea ADN-ului şi histonelor în cromozom este explicabilă prin faptul că un cromozom de 5 μm conţine o moleculă de ADN de 6×10^{10} daltoni. Dublul helix de ADN corespunzător acestei mase are o lungime de *3 cm*. Este clar că ADN-ul trebuie să fie împachetat foarte compact în cromozomi pentru ca un *„fir"* lung de *3 cm* să „încapă" în 5 μm (0,0005 cm).

Nucleozomul reprezintă forma de organizare a complexului ADN-histone (deci a cromatinei). Conceptul de nucleozom a fost introdus de KORNBERG în anii 1975-1977. Nucleozomul este *un octamer histonic* de forma unui cilindru turtit cu dimensiunile de 11 nm diametru şi 5,5 nm înălţime, înconjurat de două ori de un duplex de ADN (KORNBERG şi KLUG, 1981). Aceste două spire ale duplexului de ADN din jurul octamerului corespund la două perechi de baze.

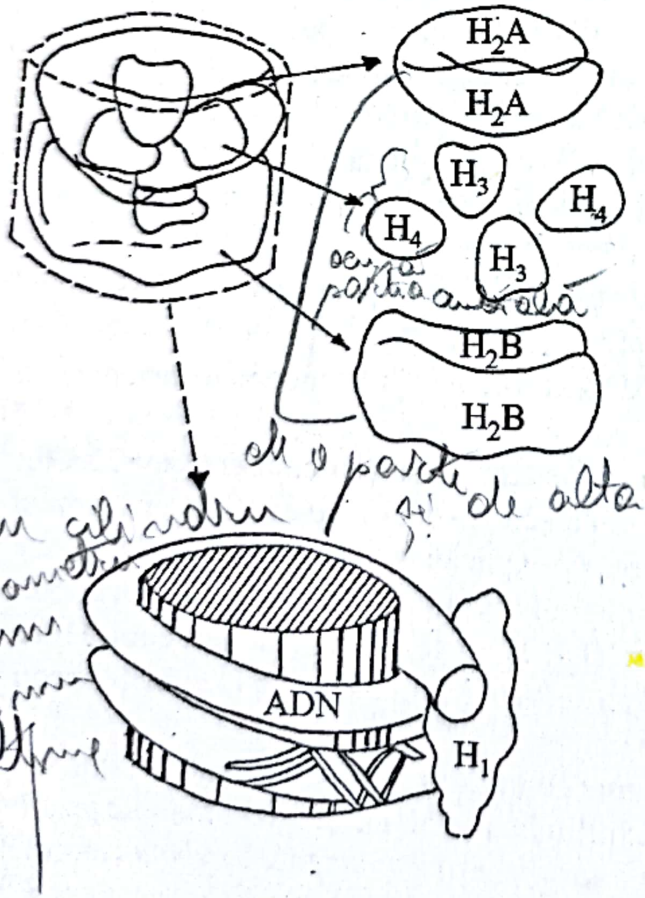


Fig. 4.14. *Alcătuirea nucleozomului*

Octamerul histonic (fig. 4.14) este format din câte două molecule de fiecare dintre cele patru histone: H_{2A}, H_{2B}, H_3 şi H_4. *Tetramerul de histone* $(H_3)_2(H_4)_2$ *bogate* în *arginină* formează miezul nucleozomului şi determină înfăşurarea duplexului de ADN. Cei doi dimeri de histone $(H_{2A})_2$ şi $(H_{2B})_2$, bogaţi în *lizină* sunt ataşaţi miezului nucleozomului. Nucleozomul nu conţine proteine nehistonice. Histona H_1 nu face parte din structura nucleozomului. Ea se găseşte situată lateral de nucleozom, în contact cu intrarea şi ieşirea ADN-ului în/şi din nucleozom. Legarea histonei H_1 de ADN-ul linker (engl. *linker* = care leagă) se face prin forţe ionice. Histona H_1 formează locuri de legare pentru *proteinele nehistonice* HMG_1 şi HMG_2.

Molecula de ADN este continuă în lungimea unui cromozom, astfel că între doi nucleozomi învecinaţi se află

un fragment de ADN linker sau internucleozomic. ADN-ul linker este la rândul său cuplat cu o moleculă de histonă H_1, amplasată de asemenea între doi nucleozomi. Completarea structurii cu regiunile de „legătură" din ADN linker şi cu histona H_1, duce la înşiruirea nucleozomilor unul după altul ca mărgelele pe aţă, formând în acest mod *filamentul subţire* de cromatină cu diametrul de *11 nm*. Această structură se poate observa la microscopul electronic dacă cromatina este „întinsă" în mod artificial. În celula vie însă, cromatina adoptă structura de *fibră de cromatină* de *30 nm* în diametru (fig. 4.15). Fibra de 30 nm realizează o structură helicoidală (un *solenoid* sau *bobină*) prin răsucirea în spirală. Această structură are pasul elicei de 11 nm (cât corespunde nucleozomilor în contact prin feţele lor laterale) şi diametrul de 30 nm, având în centru, în tot lungul fibrei, un spaţiu gol cu diametrul de 11 nm. Fiecare tur de spiră corespunde la 6 nucleozomi. Împachetarea ADN-ului pe nucleozom (filament de 11 nm) şi împachetarea nucleozomilor sub formă de solenoid (fibra de 30 nm) corespund raporturilor de împachetare ale cromatinei (eucromatinei şi respectiv heterocromatinei) în nucleul interfazic. De aceea, eucromatina corespunde filamentului nucleozomic de 11 nm, iar heterocromatina corespunde solenoidului de 30 nm (fig. 4.16).

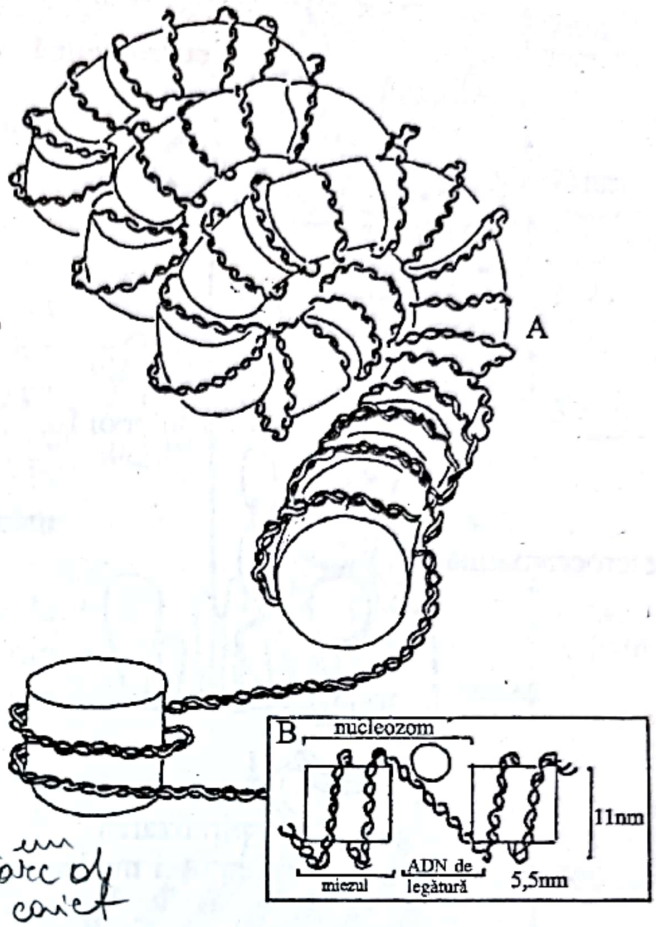


Fig. 4.15. ***Schema structurii nucleozomului (B) şi a fibrei de cromatină de 30 nm (A)***

Pentru realizarea cromozomilor mitotici din fibra de 30 nm este necesară o compactare a ADN-ului cu încă două ordine de mărime. Proteinele nehistonice sunt implicate în realizarea celor două grade de superspiralizare a solenoidului în condensarea cromozomilor. *Fosforilarea* proteinelor nehistonice ar declanşa superspiralizarea solenoidului *(la trecerea G_2-mitoză)*, iar *defosforilarea* lor ar induce despiralizarea solenoidului *(la trecerea mitoză-G_1)*. G_1 *(faza presintetică)* şi G_2 *(faza postsintetică)* fac parte din ciclul celular.

Împachetarea nucleozomilor în fibra de cromatină de 30 nm este dependentă de ionul de Mg^{2+} şi de histonele H_1. Fiecare moleculă de histona H_1 are o regiune

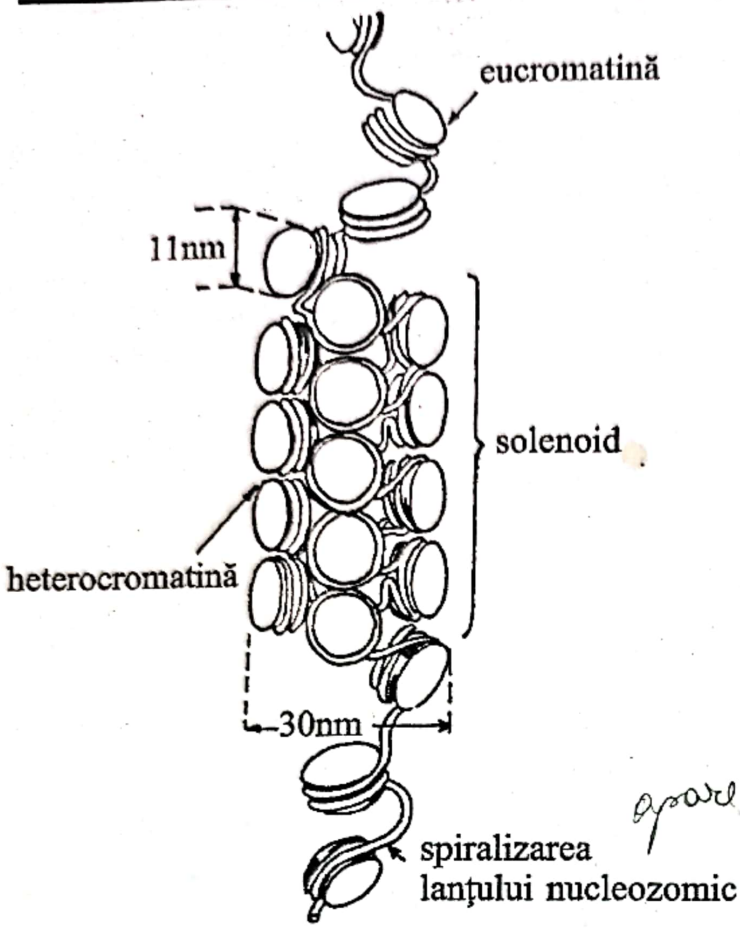


Fig. 4.16. ***Eucromatina (filamentul nucleozomic de 11 nm) şi heterocromatina (solenoidul de 30 nm)***

centrală globulară şi două „braţe" ce corespund capetelor amino-terminal şi carboxil-terminal din lanţul polipeptidic. *Regiunea globulară* se leagă de un loc anumit de pe fiecare nucleozom, iar braţele se întind trecând peste ADN-ul de legătură şi ancorându-se de miezul nucleozomului adiacent.

În timpul diviziunii celulare, condensarea cromatinei corespunde împachetării compacte în spaţiu a fibrei de cromatină de 30 nm, cu realizarea structurii cromozomului din metafază. NOKKOLA (1986); TANIGUCHI şi TAKAYAMA (1986) susţin modelul spiralizării ierarhice, în care fibra de 30 nm se spiralizează succesiv până ce ajunge la structura cromozomului metafazic (fig. 4.17).

Nucleozomii şi activarea genelor

Nucleozomul nu este o unitate de informaţie genetică, ci o unitate de împachetare a ADN-ului. ADN-ul corespunzător unui nucleozom (înfăşurat pe un nucleozom) este prea scurt pentru a corespunde unei gene structurale.

Gena este formată din aproximativ *1000 perechi de nucleotide (perechi de baze),* în timp ce ADN-ul înfăşurat pe nucleozom are *200 perechi de baze.*

La eucariote, unele gene apar discontinuie, adică secvenţele din ADN care codifică aminoacizii sunt separate prin segmente de ADN care nu codifică. Segmentele din genă care se exprimă în secvenţa de aminoacizi în lanţul polipeptidic se numesc *exoni*, iar cele care nu se exprimă se numesc *introni* (fig. 4.18 şi 4.19).

Ipoteza asupra mecanismului prin care genele structurale din ADN-ul înfăşurat pe nucleozom sunt activate pentru transcripţie a fost emisă în 1982. Activarea genelor se face ca urmare a intervenţiei proteinelor *nehistonice* HMG_{14} *şi* HMG_{17}, care fie înlocuiesc proteinele HMG_1 şi HMG_2 de pe locurile lor de legare pe histona H_1, fie înlocuiesc însăşi histona H_1 de pe ADN-ul linker internucleozomic. Astfel, regiunile din filamentul nucleozomic în care intervin proteinele HMG_{14} şi HMG_{17} şi-ar modifica conformaţia, devenind regiuni active transcripţional.

Scanned with OKEN Scanner

4.5. Nucleolul

Este o formaţiune corpusculară intranucleară, prezentă numai în interfază, a cărei funcţie principală este biogeneza ribozomilor (cu excepţia ribozomilor mitocondriali). Nucleolul rezumă principalele procese ce au loc în nucleu (replicare, transcripţie, transport), fiind un *intermediar între cromozomi şi citoplasmă*. Nucleolii sunt prezenţi (vizibili sau nu) în toate celulele eucariote, neexistând nucleu fără nucleol sau nucleoli.

Dimensiunea nucleolilor este de 1-2 μm, reprezentând până la 30 % din volumul nucleului. În celulele care sintetizează cantităţi mari de *proteine de export*, deci, au nevoie de mai mulţi ribozomi în citoplasmă (de exemplu, celulele seroase din pancreas, neuronii, limfocitele), nucleolii au dimensiuni mai mari, deoarece în ei are loc *biogeneza ribozomilor*. În schimb, în celulele în care se sintetizează numai *proteine de structură (celulele spermatice)*, dimensiunile nucleolilor sunt mici. Dat fiind dimensiunea lui, nucleolul poate fi foarte frecvent în afara incidenţei secţiunii, atât în microscopia optică, cât şi în cea electronică. De exemplu, hepatocitul cu un diametru de circa 20 μm pentru microscopul optic va fi secţionat în *10 secţiuni seriate*, fiecare cu grosimea de 2 μm; pentru microscopul electronic vor fi necesare 400 de secţiuni cu grosimea de 50 nm. Dacă nucleolul are diametrul de 1 μm, rezultă că şansa de a intercepta nucleolul este de *1 la 10 secţiuni* în microscopia optică.

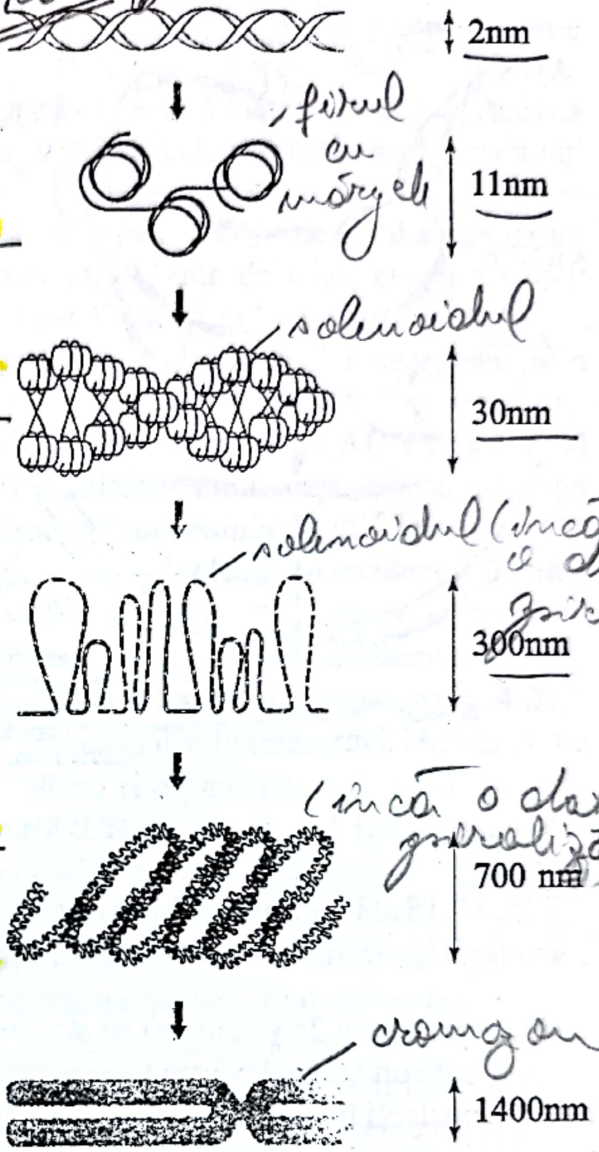


Fig. 4.17. ***Treptele împachetării ADN-ului până la cromozomul metafazic***. De la ADN dublu helix de 2 nm, la ADN asociat cu histonele formând filamentul nucleozomic de 11 şi 30 nm, apoi superspiralizarea în trepte de 300 nm şi 700 nm, până în faza finală de cromozom metafazic de 1400 nm *(Junqueira şi colab., 1998)*

Raportul nucleolo/nuclear. Având în vedere rolul nucleolului în biogeneza ribozomilor, se înţelege că numărul şi mărimea nucleolilor sunt în funcţie de starea

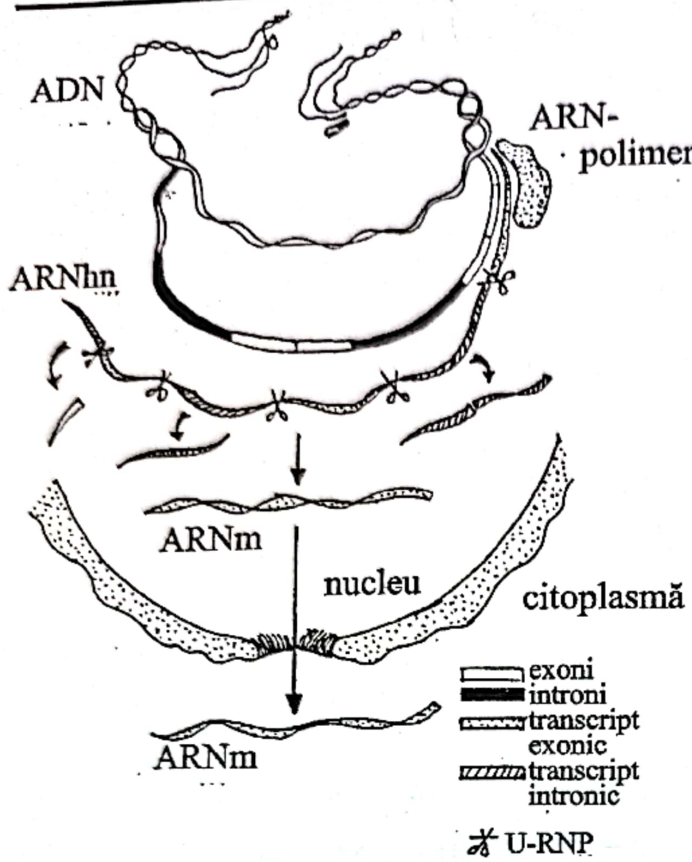


Fig. 4.18. ***Mecanismul transcripţiei şi controlul post transcripţiei la celula eucariotă***

funcţională a celulei. Există un raport între volumul nucleolului şi al nucleului, numit *raport nucleolo/nuclear*. În general, nucleolul ocupă circa 30 % din volumul nucleului. Însă cu cât celula este mai activă în sinteza proteinelor, cu atât raportul nucleolo/nuclear este mai mare. De aceea raportul nucleolo/nuclear este un criteriu important în stabilirea vârstei celulei. Caracterele de *celulă tânără* sunt: *nucleu mare şi eucrom, nucleol mare* (sau *nucleoli multipli*), citoplasma *redusă şi bazofilă*. Invers, caracterele de *celulă adultă* sunt: *nucleu mai mic şi hipercrom, nucleoli mici* sau *nucleol unic, citoplasmă abundentă şi acidofilă*.

Numărul nucleolilor este în raport direct cu gradul de ploidie şi astfel, majoritatea celulelor somatice 2n (diploide) au *doi nucleoli*. Nucleul celulelor somatice conţine obişnuit câte un nucleol pentru fiecare *set cromozomial*. Spre exemplu, în hepatocite există 2 nucleoli în celule diploide, 4 nucleoli în cele tetraploide şi 8 nucleoli în cele octaploide.

Forma nucleolilor este de cele mai multe ori rotund-ovalară. Pe măsură ce celula îmbătrâneşte, nucleolul capătă o formă neregulată.

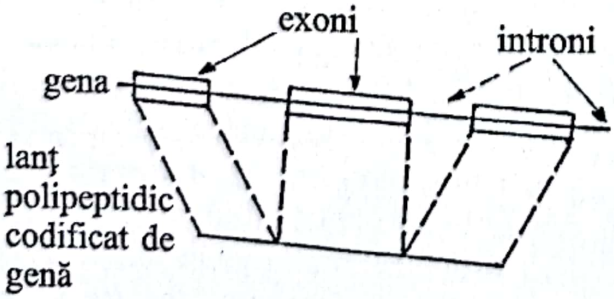


Fig. 4.19. ***Schema unei gene „discontinue", prezentând exoni şi introni***

Poziţia nucleolilor în nucleu este de obicei centrală sau paracentrală, dar poate varia în funcţie de momentul activităţii. S-au descris mişcări ale nucleolului în interiorul nucleului şi chiar stabilirea unor contacte cu învelişul nuclear, localizare eficientă pentru descărcarea de material biologic în citoplasmă. Când este lipit de nucleolemă se poate confunda la MO cu *cromatina sexuală X* (corpuscul cromocentric), dar sub

Scanned with OKEN Scanner

aspectul compoziţiei chimice *nucleolul conţine ARN*, iar cromatina sexuală X este formată din ADN.

Nucleolul este cea mai densă structură din celulă (densitate 1,35). Aceasta se datoreşte unei mari concentraţii de substanţă uscată, respectiv a unei cantităţi foarte mici de apă (circa 10 %).

La microscopul în contrast de fază, în celulele vii, nucleolul apare ca un corpuscul puternic *refringent* (datorită cantităţii scăzute de apă), cu un conţinut *heterogen* şi cu un contur neregulat. În celule fixate şi colorate cu hematoxilină-eosină, nucleolul apare ca un *corpuscul bazofil*, mai ales în nucleii eucromatici (în neuroni, nucleolul se remarcă ca o *insulă heterocromatică*, într-o zonă eucromatică).

Coloraţia Feulgen, care pune în evidenţă în mod selectiv ADN-ul colorând cromatina în roşu-violaceu, a permis individualizarea unui corpuscul cromatinian ataşat nucleolului, aşa-numita *cromatina asociată nucleolului*.

Prin impregnări argentice în structura nucleolului se evidenţiază două componente: *nucleololema*, o formaţiune filamentoasă răsucită ca un ghem şi *porţiunea amorfă*, componentă astructurată în care se găseşte nucleolema.

La microscopul electronic, nucleolul este alcătuit din patru componente (fig. 4.20):

a) pars fibrosa (componenta fibrilară) formată din filamente de 5 nm grosime şi 30-40 nm lungime, grupate în pachete şi organizate ca o reţea. Aceasta este formată din ADN-ul pe care se sintetizează ARN-ul ribozomal şi din produsul primar al acestei sinteze (ARN 45 S);

b) pars granulosa (componenta granulară) alcătuită din granule de 15-20 nm diametru, similare, dar nu identice subunităţilor ribozomilor, reprezintă precursorii ribozomilor şi este componenta nucleolară dominantă;

c) pars amorfa (componenta astructurată) este omogenă şi cu densitate medie la fluxul de electroni. Unii consideră că această componentă ar fi *cariolimfă*, iar după alţii ar fi un fel de matrice pentru celelalte componente nucleolare.

d) pars cromosoma (componenta cromozomială) alcătuită din filamente de 10 nm, este repartizată la periferia nucleolului *cromatina perinucleolară* (*cromatina asociată nucleolului*), dar pătrunde sub formă de benzi şi în interior (cromatina intranucleolară).

Aceste patru componente nucleolare pot fi distinse clar în acelaşi nucleol numai în cazuri rare. Raporturile cantitative şi topografice dintre cele patru componente variază în raport cu tipul celular şi în mod special, cu momentul funcţional. Spre exemplu, în hepatocit componenta fibrilară ar reprezenta 15%, granulară 70%, amorfă 10% şi componenta cromozomială 5% din volumul nucleolului.

Nucleolul nu este delimitat şi nu conţine membrane.

Corelaţia microscopie optică-microscopie electronică.

Componenta fibrilară şi cea *granulară* se pot asocia formând benzi ce apar la microscopul optic ca *nucleololema*, iar porţiunea periferică a componentei cromozomiale corespunde *cromatinei asociate nucleolului*.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleolul este implicat în biogeneza ribozomilor

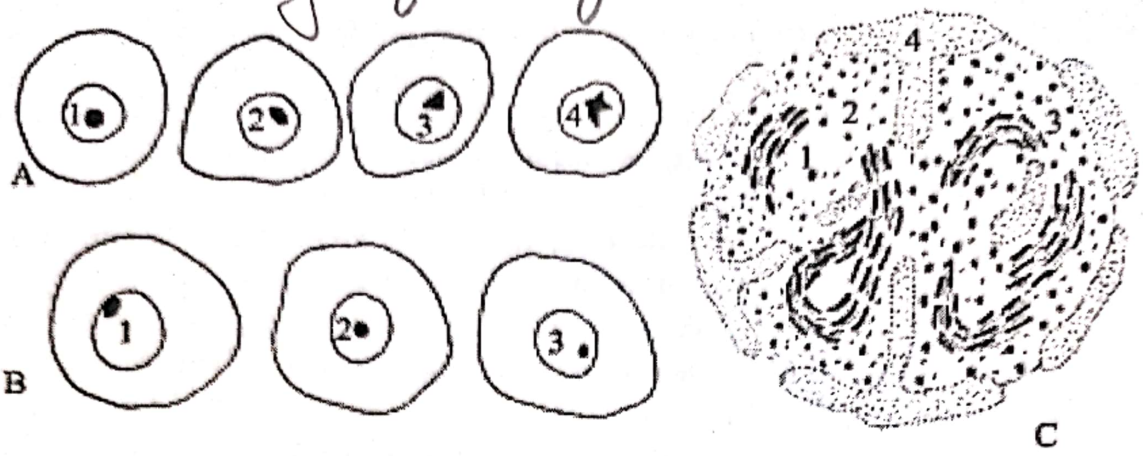


Fig. 4.20. ***Nucleolul*** : A-forma : 1-ovalară ; 2-discoidală ; 3-triunghiulară ; 4-neregulată. B-poziţia : 1-lipit de membrana nucleară ; 2-central ; 3-paracentral. C-nucleolul la ME : 1-pars fibrosa ; 2-pars granulosa ; 3-pars amorfa ; 4-pars cromosoma.

După criteriile ultrastructurale sunt descrise următoarele tipuri de nucleoli :

a) *nucleolul reticular,* forma cea mai comună care corespunde tipului ultrastructural descris mai sus ;

b) *nucleolul compact* în care nu se poate decela ultrastructura, întâlnit la câteva tipuri celulare, de exemplu limfocite ;

c) *nucleolul inelar* în care componentele fibrilo-granulare formează un inel periferic, care înconjoară o lacună centrală.

În privinţa *compoziţiei chimice,* nucleolul constituie un amestec de trei componente majore : ADN 3%, ARN 7% şi proteine 90% din greutatea uscată, la care se adaugă cantităţi foarte mici de lipide şi minerale (magneziu, calciu, zinc, cobalt, etc.).

ADN-ul este reprezentat de organizatori nucleolari ce pătrund ca nişte bucle de ADN în nucleol.

ARN-ul este în principal ribozomal aflat în diferite faze de maturare. Se presupune că nucleolul ar fi o staţie intermediară în tranzitul spre citoplasmă al ARN-ului mesager şi al celui de transfer. În nucleol există tipuri de ARN după coeficientul lor de sedimentare exprimat în *unităţi Svedberg*. Acestea sunt : ARN 45 S, ARN 41 S, ARN 32 S, ARN 28 S, ARN 20 S, ARN 18 S, ARN 5,8 S, ARN 5 S şi corespund diferitelor etape de maturare a ARN.

Proteinele nucleolare în cea mai mare parte sunt enzime implicate în sinteza şi maturarea ARN$_r$: ARN-polimeraza-ADN-dependentă *(ARN-polimeraza I), convertaza, metilaza, RN-aza, poliriboadenilic-sintetaza* etc.

Corelaţia structură-ultrastructură-compoziţie chimică

Bazofilia nucleolului, principala caracteristică la microscopul optic, se datorează conţinutului relativ mare de ARN şi ADN. Pars fibrosa şi pars granulosa sunt formate din ARN (sunt digerate de RN-ază). Pars cromosoma este formată din ADN (digerată de *DN-ază).* Pars amorfa este formată din proteine (este digerată de pepsină).

Scanned with OKEN Scanner

4.5.1. Funcţiile nucleolului

a) Rol în sinteza ARN$_r$ şi biogeneza ribozomilor.

ADN-ul nucleolar joacă rol de matriţă pentru sinteza ARN$_r$ şi reprezintă *organizatorul nucleolar.* În fig. 4.21 se indică simplificat rolul nucleolului în biosinteza ARN$_r$ şi biogeneza ribozomilor.

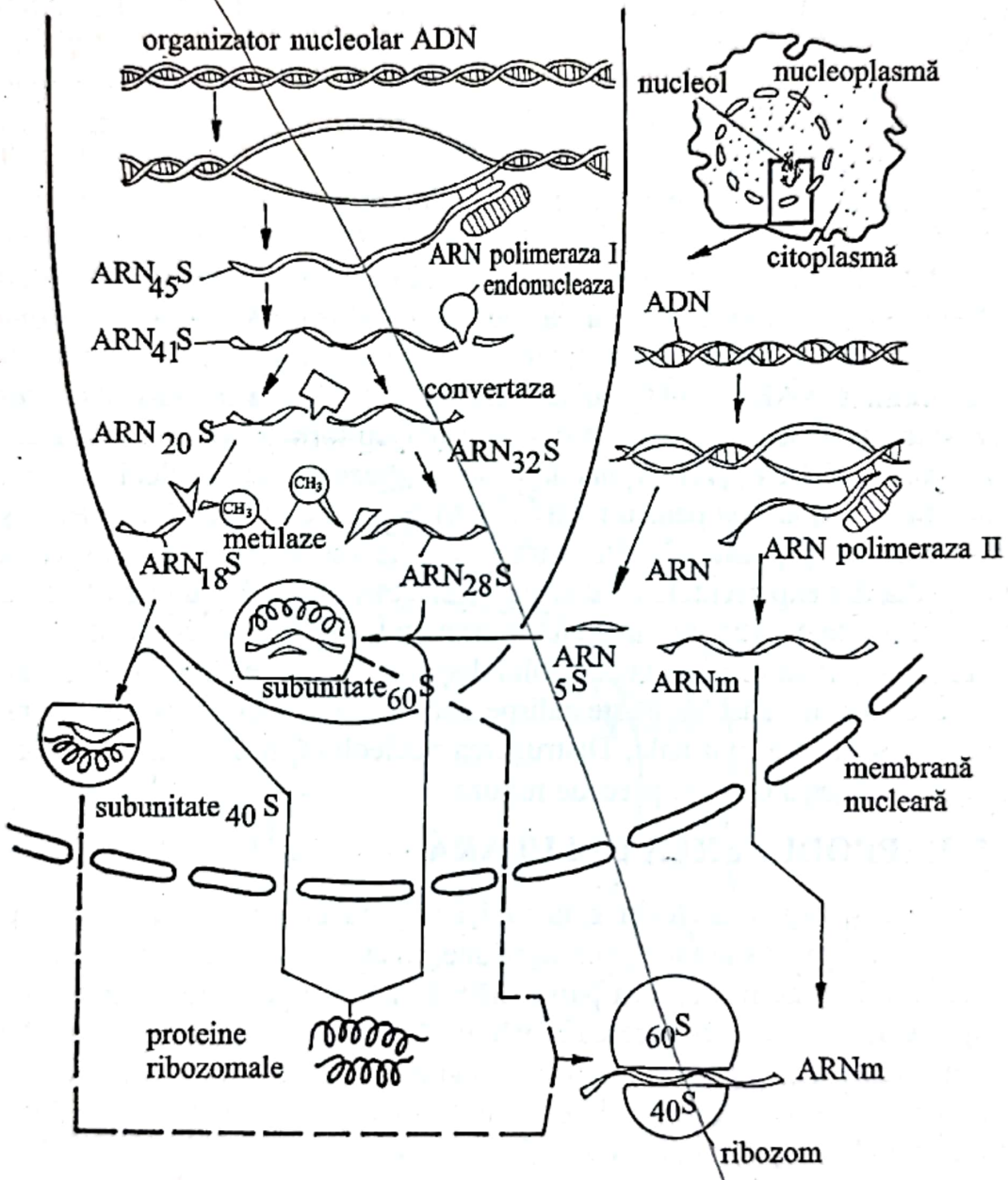


Fig. 4.21. ***Biosinteza ARN$_r$ şi biogeneza ribozomilor***

Precursorul ARN$_r$ este ARN 45 S, transcris după ADN$_r$ cu intervenţia ARN-polimerazei I. În nucleolii hepatocitelor se sintetizează 1000 de molecule de *ARN 45 S* pe minut, viteza de transcripţie a unei molecule fiind de aproximativ 45 secunde. O parte din molecula de ARN 45 S este îndepărtată de o endonuclează şi se formează ARN 41 S, care este mai departe scindat în ARN 20 S şi ARN 32 S de către o convertază.

Scanned with OKEN Scanner

ARN 20 S este metilat prin intervenţia unei metilaze şi transformat, prin îndepărtarea unui fragment molecular, în forma matură *ARN 18 S.* Acesta părăseşte nucleolul, se combină cu 33 proteine provenite din citoplasmă şi este translocat în citoplasmă, prin porii învelişului nuclear, sub formă de particule ribonucleoproteice (RNP), care reprezintă *subunitatea ribozomală mică de 40 S,* ce apare în citoplasmă la *30 minute* de la debutul sintezei.

ARN 32 S este şi el metilat şi se transformă într-o formă matură *ARN 28 S,* tot prin îndepărtarea unui fragment din moleculă. ARN 28 S, împreună cu ARN 5 S şi ARN 5,85 (de origine tot nucleară), dar extranucleolară şi cu 45 proteine formează o particulă ribonucleoproteică (RNP) care reprezintă *subunitatea ribozomală mare (60 S) ;* aceasta traversează învelişul nuclear prin pori, apărând în citoplasmă *la o oră* de la debutul sintezei.

Cele două subunităţi ribozomale, mică şi mare, se asamblează în citoplasmă *pe* ARN_m.

b) Reglarea biosintezei de ARN_r în nucleol depinde de numărul de ribozomi prezenţi în citoplasmă. Se presupune că ar avea loc un *mecanism feed-back* ; ribozomii înşişi, de fapt un produs ribozomal, ar acţiona ca inhibitor al genelor ADN_r responsabil de sinteza ARN_r. Astfel, distrugerea ribozomilor va conduce la *încetarea inhibiţiei* şi implicit, la creşterea sintezei de ARN_r cu formarea de noi ribozomi.

c) Rol în transferul ARN_m *şi* ARN_s *în citoplasmă.* Prezenţa unui nucleol funcţional este o condiţie *sine qua non* pentru transferul ARN_m (deci a mesajului genetic) şi a ARN_t din nucleu în citoplasmă, în ultimă instanţă pentru sinteza proteinelor specifice, aşa cum rezultă din experienţele de distrugere selectivă a nucleolului cu fasciculul laser. Nucleolul este o staţie intermediară în tranzitul ARN_m şi ARN_t în citoplasmă.

d) Rol în pregătirea mitozei. Deşi nucleolul dispare ca entitate structurală în cursul mitozei, prezenţa sa intranucleară este indispensabilă în interfază pentru desfăşurarea ulterioară a unei mitoze normale. Distrugerea nucleolului în interfază conduce la blocarea celulei în faza G_2 care precede mitoza.

5. REPRODUCEREA CELULARĂ

Celulele şi organismele în general îşi asigură continuitatea în timp prin reproducere. Acest proces are loc prin diviziune, în care dintr-o celulă rezultă două celule fiice identice sau nu, cu cea parentală. Diviziunea celulară devine posibilă numai după ce a avut loc reproducerea biochimică sau moleculară care necesită atât materiale nutritive şi energetice, cât şi informaţie genetică. În cursul reproducerii biochimice are loc creşterea masei celulei şi duplicarea componentelor. Reproducerea biochimică include cel puţin patru faze :

a) o fază de acumulare a substanţelor anorganice ;
b) sinteza enzimatică a unor substanţe organice simple (aminoacizi, monozaharide etc) ;
c) sinteza proteinelor ;
d) sinteza ADN-ului.

Scanned with OKEN Scanner

Această ultimă fază, *replicarea ADN-ului*, este esenţială pentru a putea declanşa diviziunea celulară. Reproducerea celulară se petrece în cadrul unui complex de evenimente ce se succed ciclic, de aceea se vorbeşte de un *ciclu celular.*

5.1. Ciclul celular

Ciclul de viaţă al unei celule denumit şi *ciclu celular*, este perioada de timp scursă de la apariţia unei celule, adică din momentul în care s-a încheiat diviziunea prin care a luat naştere până la terminarea altei diviziuni proprii. Acest ciclu de viaţă al unei celule se împarte în două mari faze: *diviziunea celulară* (M, *mitoza*), şi perioada situată în afara diviziunii (sau între două diviziuni succesive) numită *interfază* sau *intercineză*. Denumirea originală de interfază era dată considerându-se că ar fi o mică perioadă între diviziuni în care celula „se odihneşte". Ulterior s-a demonstrat că interfaza este perioada cu activitatea metabolică cea mai intensă deoarece acum se sintetizează majoritatea ADN, ARN şi a proteinelor din celulă. Sinteza ARN şi a proteinelor are loc în toată interfaza, pe când sinteza ADN are loc numai într-o anumită perioadă, numită *faza sintetică (S)*; înaintea ei există *faza presintetică* (G_1) iar după aceea, *faza postsintetică* (G_2) (fig. 5.1).

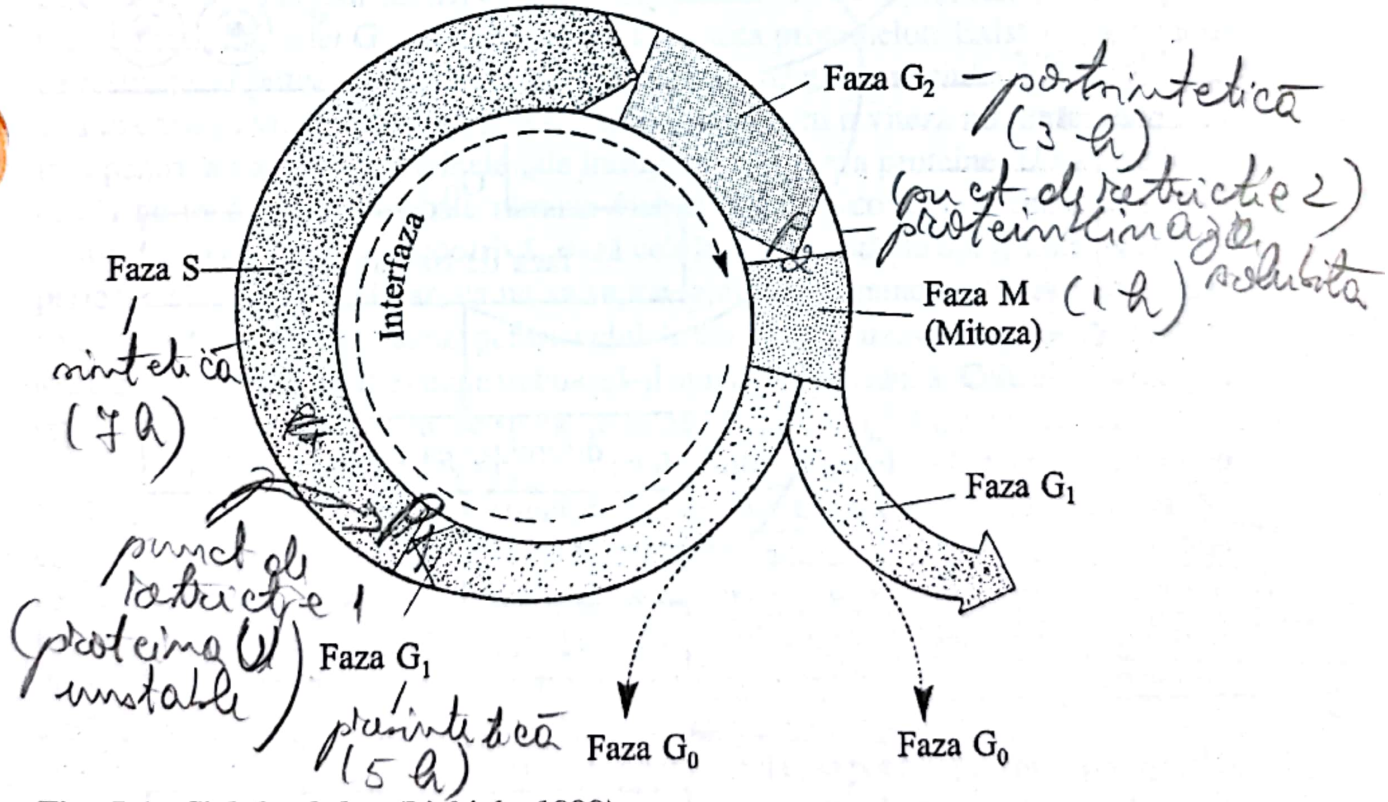


Fig. 5.1. ***Ciclul celular*** *(Liebich, 1999)*

Deci, întregul ciclu celular este compus din patru faze: G_1 – intervalul de timp de la sfârşitul mitozei şi până la începutul sintezei ADN; S – faza sintezei

ADN; G_2 – faza dintre sfârşitul sintezei ADN şi începutul mitozei şi M (mitoza). În ambele faze G_1 şi G_2 are loc şi creşterea considerabilă a celulei.

Durata ciclului celular este variabilă în funcţie de specie şi tip celular, chiar şi de la o celulă la alta, în acelaşi ţesut. În general, la eucariote, ciclul celular durează *10-25 ore*, din care mitoza durează circa *o oră*. Pentru o celulă de mamifer în cultură, la o durată a ciclului celular de circa *16 ore*, durata celor patru faze este: G_1 = 5 ore; S = 7 ore; G_2 = 3 ore; M = 1 oră. Faza G_1 are durata cea mai variabilă de la o celulă la alta, în timp ce faza S este cea mai constantă pentru un anumit tip celular.

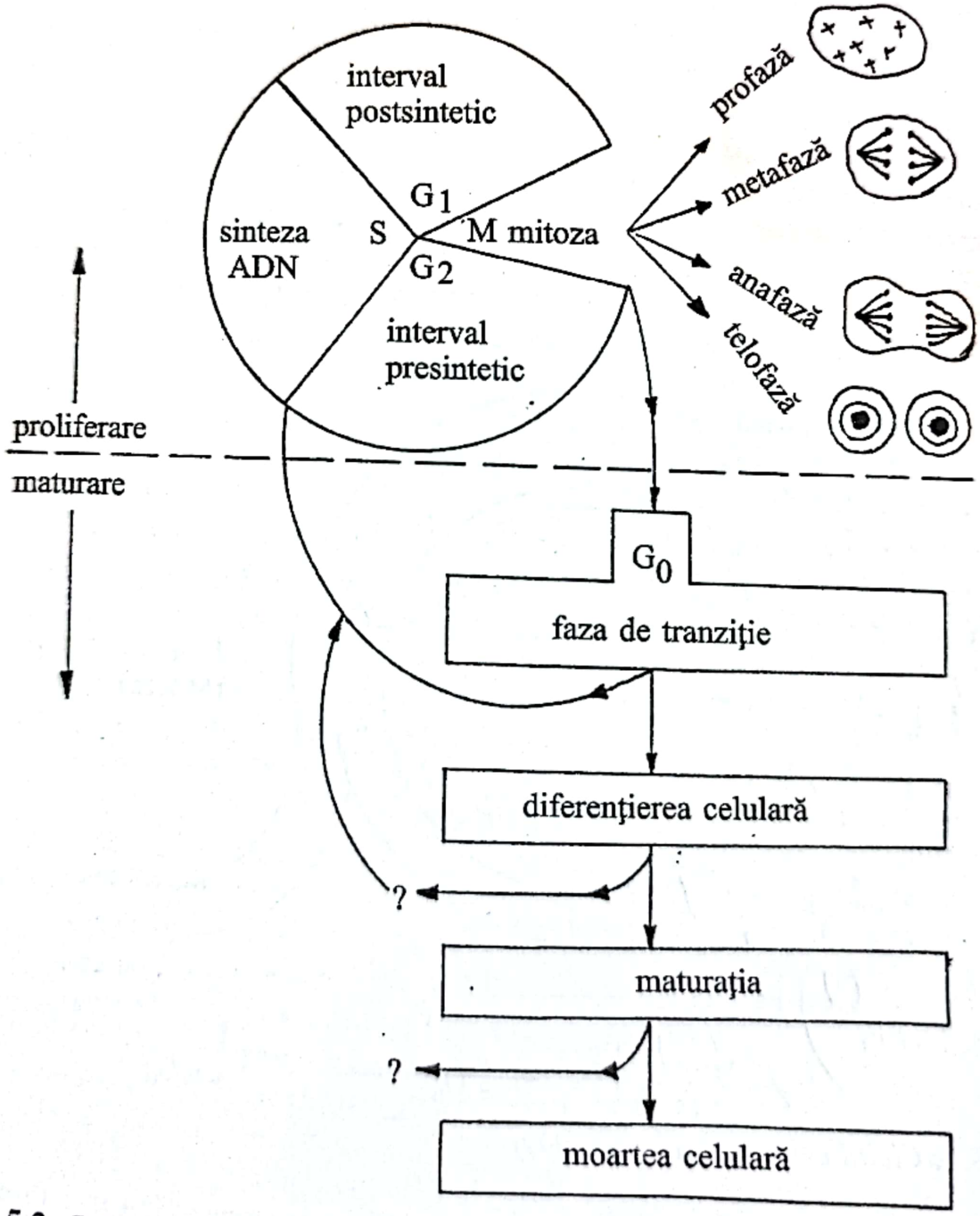


Fig. 5.2. *Schema ciclului biologic al celulei animale (PAUL, I., 1989)*

Scanned with OKEN Scanner

Există celule în organism care se divid foarte rapid, parcurgând integral ciclul celular în *8 ore,* pe când altele se divid rar, deci cu ciclul celular de *100 zile* sau mai mult. Ceea ce diferă este durata fazei G_1, în care unele celule pot exista chiar ani de zile. Dimpotrivă, după ce au depăşit faza G_1, timpul necesar pentru fazele S şi G_2, deci până la începutul diviziunii, este remarcabil de constant pentru diferite celule.

În ciclul celular se descriu aşa-numitele *puncte de restricţie* (fig. 5.2), momente a căror depăşire duce la posibilitatea parcurgerii etapelor următoare.

Cel mai important punct de restricţie este cel de trecere din etapa G_1 în S. Depăşirea lui într-o populaţie de celule este variabilă de la o celulă la alta şi chiar pentru aceeaşi celulă, de la un ciclu celular la altul. Acest aspect are două consecinţe. Pe de o parte, celulele dintr-o populaţie (fie într-un ţesut, fie într-o cultură de celule), nu parcurg în acelaşi timp toate etapele ciclului celular. La un moment dat, celulele dintr-o populaţie se vor găsi în diferite etape ale ciclului celular. Astfel de populaţii celulare sunt denumite *asincrone.*

Trecerea din etapa G_1 în S (depăşirea punctului de restricţie) ar fi favorizată de acumularea în celulă peste o anumită concentraţie prag a unei proteine instabile, *numită proteina U* (de la *„unstable"*). Această proteină determină iniţierea replicării ADN, deci trecerea celulei în etapa S. Fiind instabilă, proteina U poate trece pragul de concentraţie necesar numai când este sintetizată relativ rapid. Astfel s-ar explica prelungirea perioadei G_1 când este inhibată sinteza proteinelor. Existenţa punctului de restricţie ar putea fi privită ca o rezervă de supravieţuire a celulei. Dacă celula se află în condiţii vitrege, ea va putea sintetiza proteine cu o viteză minimă, suficientă însă pentru a-i asigura proteinele „de întreţinere". Sinteza proteinei U va fi redusă, celula nu se divide, dar poate rămâne viabilă chiar în condiţii de inaniţie severă pentru perioade lungi. Dimpotrivă, dacă celula este lipsită de aport nutritiv în alte perioade ale ciclului celular, ea nu va supravieţui. Deci, punctul de restricţie apare ca un punct de „odihnă" sigur pentru celulele care, din cauza condiţiilor de creştere sau a interacţiunilor cu alte celule trebuie să-şi oprească diviziunea. Celulele care se află oprite în această stare stabilă, se spune că se află în *„faza G_0"* a ciclului celular.

Al doilea punct de restricţie în ciclul celular este cel de la trecerea din G_2 în M, legată de condensarea cromatinei, fenomen care trebuie să preceadă mitoza. Se consideră că o *proteinkinază solubilă* (o enzimă ce catalizează fosforilarea proteinelor) este activată spre sfârşitul perioadei G_2, ce acţionează asupra proteinelor din membrana nucleară, inducând dezasamblarea învelişului nuclear. Aceeaşi enzimă produce *fosforilarea histonelor H_1* şi al *proteinelor nehistonice* legate de aceasta, astfel are loc condensarea cromozomilor, fenomen caracteristic mitozei.

După modul în care celulele parcurg ciclul celular, se pot clasifica în trei categorii :

- *categoria I :* celulele care şi-au pierdut capacitatea de a se divide fiind oprite în faza G_1 (neuronii, celulele musculare) ;
- *categoria a II-a* : celule cu o mare capacitate de diviziune (cele din măduva osoasă hematogenă, epiderm, epiteliul mucoasei intestinale, celulele liniei germinative spermatogene) ;

- *categoria a III-a*: celule cu o capacitate scăzută de a se divide, care, însă, în condiţii speciale se pot divide rapid (hepatocitele, celulele glandelor endocrine). De pildă, după hepatectomie, ficatul îşi reface rapid celulele pierdute, prin diviziune rapidă a hepatocitelor.

În ţesuturile ce corespund categoriei a II-a există două compartimente celulare: *compartimentul proliferativ*, reprezentat de celule care se divid rapid şi un *compartiment neproliferativ*, reprezentat de celule care nu se divid decât în anumite condiţii. ţesuturile din această categorie pierd în mod fiziologic o parte din celulele materne, de pildă, celulele din epiteliul mucoasei intestinale se exfoliază după 3-5 zile (cât durează migrarea lor din criptele mucoasei intestinale până la vârful vilozităţilor), hematiile se distrug după 120 zile de viaţă.

Pierderile de celule mature sunt compensate prin trecerea constantă a unor celule din *compartimentul neproliferativ* în cel *proliferativ*. Celulele din compartimentul neproliferativ sunt numite şi *celule stem* (sau *celule suşă*), fiind celule de rezervă. Din punctul de vedere al ciclului celular, aceste celule se află în faza G_0, deci oprite pentru o perioadă, după care pot să reia parcurgerea ciclului celular sub acţiunea unor stimuli specifici, reprezentaţi de *substanţele mitogene*, adică cele care induc mitoza.

S-au descris mitogene specifice ca: *eritropoietina, factorii de creştere ai unor celule* (ai nervilor, ai fibroblastelor), *poliamine* ca *putresceina* sau hormoni, ca *estrogenii*. Există şi factori tisulari, care inhibă diviziunile celulare, cum sunt *chalonele* (peptide sau glicoproteine).

5.2. Diviziunea celulară

Diviziunea celulară constă în formarea dintr-o celulă a două fiice. În esenţă, diviziunea celulară este etapa ciclului celular în care se realizează o distribuire a materialului genetic la cele două celule-fiice. Aceasta se poate realiza în două moduri: prin *diviziune directă* (sau *amitoză*) şi prin *diviziune indirectă*, care poate fi de două tipuri (*mitoză* şi *meioză*).

Diviziunea:

- *directă (amitoza)*
  - sciziparitatea
  - înmugurirea
  - clivajul (fisura)
  - endocitogeneza
- *indirectă (cariocineză)*
  - homeotipică (ecuaţională sau mitoza) – celulele fiice sunt diploide cu „2n” cromozomi
  - heterotipică (reducţională sau meioza) – celulele fiice sunt haploide cu „n” cromozomi (*spermatozoizii şi ovulele*)

Scanned with OKEN Scanner

5.2.1. Diviziunea directă (amitoza)

Este un tip de diviziune caracteristic organismelor *unicelulare,* fiind considerată o formă inferioară de reproducere celulară. Este descrisă însă la metazoare şi la mamifere, în condiţii patologice în ţesuturile pe cale de regenerare şi în procesele tumorale. Caracteristic amitozei este lipsa aparentă a aparatului mitotic. Din acest tip de diviziune are loc o distribuire inegală a materialului genetic, apărând astfel erori.

5.2.2. Diviziunea indirectă

Este un proces mult mai complicat, caracterizat prin modificări sincrone citoplasmatice şi nucleare, prin care se realizează distribuţia egală a materialului genetic la cele două celule fiice.

Mitoza este întâlnită la toate celulele somatice (2n) şi se caracterizează prin faptul că celulele fiice au acelaşi număr de cromozomi 2n ca şi celula mamă (sunt celule *diploide*).

Meioza se întâlneşte numai la celulele care dau naştere gameţilor sexuali şi se caracterizează prin înjumătăţirea numărului de cromozomi (n) la celulele fiice (care sunt haploide) faţă de celula mamă 2n (diploidă) ; meioza este deci *diviziune reducţională.*

5.2.2.1. Mitoza

Clasic, se descriu patru faze ale mitozei : *profaza, metafaza, anafaza şi telofaza.* Adeseori se menţionează a cincea fază, numită *prometafaza,* între profază şi metafază. Durata mitozei la mamifere este de circa 60 minute, iar fazele sunt inegale : *profaza* durează 30 minute (50 %), *metafaza* 8 minute (13,4 %), *anafaza* 4 minute (6,6 %), iar *telofaza* 18 minute (30 %). Schema mitozei este redată în fig. 5.3.

Profaza se caracterizează prin fenomene citoplasmatice şi nucleare specifice. În citoplasmă, ca prim semn al intrării celulei în diviziune devine vizibil cel de al doilea centru celular (*centrozom*). Dublarea perechii de centrioli nu se face prin diviziunea celor vechi, ci prin asamblarea unor centrioli din depozitul de tubuline ale citoplasmei. Polimerizarea tubulinei pentru formarea noilor centrioli are loc încă din perioada S a ciclului celular. Mai întâi cei doi centrioli ai centrului celular se separă şi în vecinătatea fiecăruia se asamblează un centriol nou, perpendicular pe cel vechi.

Urmează apoi îndepărtarea treptată a celor doi centri celulari spre polii celulei, iar între cei doi centrozomi apar microtubuli, filamente dispuse sub forma unui fus, aşa-numitul *fus de diviziune.*

Fenomenele nucleare din profază constau în dispariţia nucleolului şi condensarea cromatinei nucleare sub forma unui ghem, numit *spirem,* din care apar cromozomii sub formă de bastonaşe.

Nucleolul dispare prin desprinderea părţii amorfe şi amestecarea acesteia cu sucul nuclear (carioplasma), iar restul din structura nucleolului se ataşează de *cromozomii organizatori nucleolari.*

Scanned with OKEN Scanner

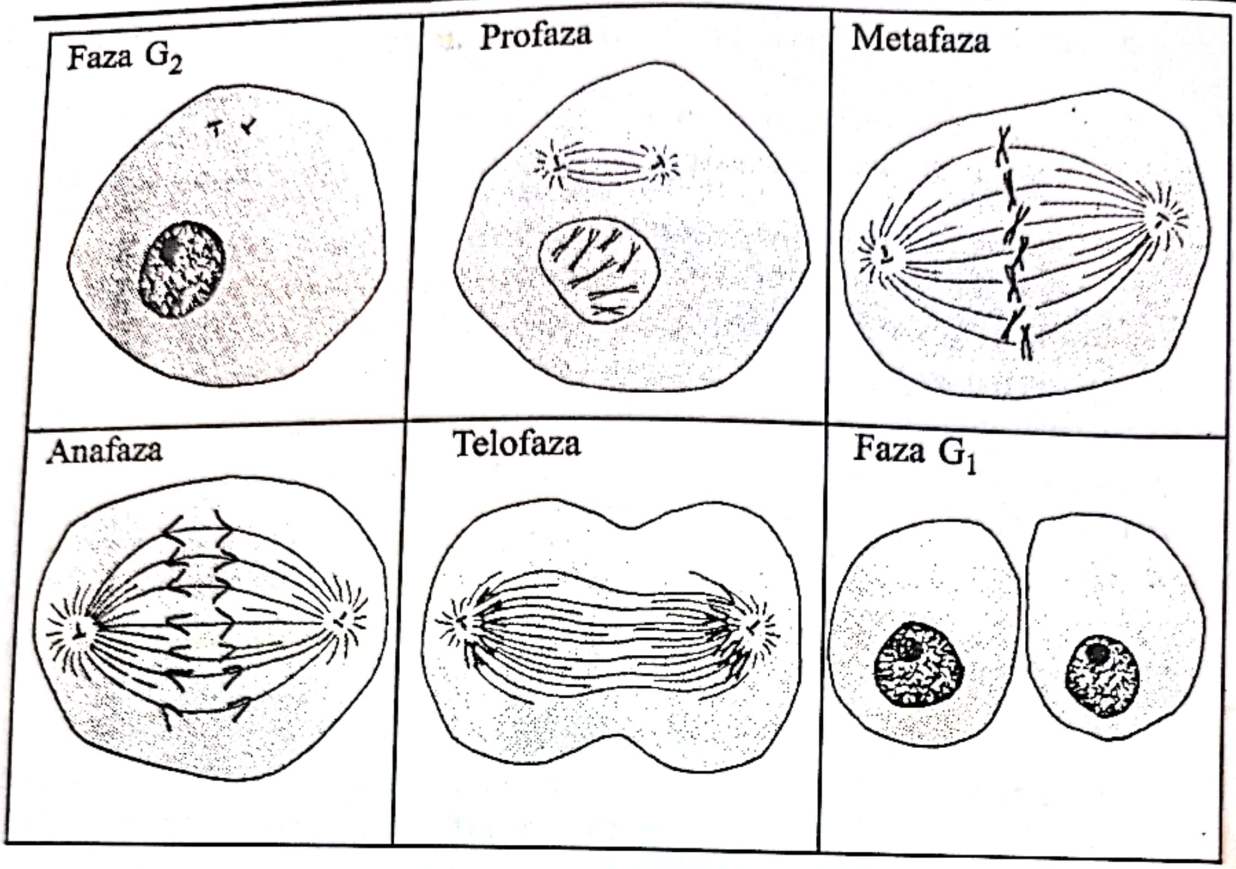


Fig. 5.3. ***Mitoza*** *(Burkitt şi colab., 1993)*

Apariţia spiremului are loc în urma acţiunii *proteinkinazei solubile* care produce fosforilarea lui H_1 şi a proteinelor nehistonice HMG_1 şi HMG_2, legate de aceasta, ducând la superspiralizarea solenoidului.

Prometafaza. Este caracterizată prin dispariţia *nucleolemei* sub acţiunea *proteinkinazei solubile* (conţinută în lizozomi) care produce fosforilarea proteinelor din membrana nucleară. Fosforilarea proteinelor din nucleolemă induce dezasamblarea învelişului nuclear. Această fază se caracterizează şi prin începerea interacţiunii cromozomilor cu fibrele fusului de diviziune. Cromozomii execută mişcări oscilatorii agitate datorită sistemului motil al microtubilor, prin care se produce deplasarea lor spre mijlocul fusului de diviziune. Viteza lor de deplasare spre centrul celulei nu este egală, ultimul ajunge cromozomul X.

Metafaza. Cromozomii sunt aranjaţi la ecuatorul fusului de diviziune, cu axa lungă a cromozomului perpendicular pe axa fusului.

Fibrele fusului de diviziune sunt alcătuite *fiecare* dintr-un mănunchi de circa *100 microtubuli* pe care se mai află şi *proteine asociate* microtubulilor. Există un echilibru dinamic între microtubulii din fus şi moleculele solubile de tubulină alfa şi beta din citosol. În fusul mitotic există două feluri de fibre după modul de ancorare la capete :

- *fibre polare* (centrozom-centrozom) sunt cele mai numeroase, dispuse de la un pol la altul ;

Scanned with OKEN Scanner

- *fibre kinetocorice* (kinetocor-centrozom) sunt ataşate la un capăt de kinetocor şi la celălalt capăt de polul respectiv.

Cromozomul are un centromer prevăzut cu doi *kinetocori*, respectiv fiecare cromatidă are câte un kinetocor, ca loc de ataşare pentru fibrele kinetocorice (fibre de jumătate de fus). Fibrele kinetocorice ale fusului de diviziune sunt formate din mănunchiuri de microtubuli ce radiază în direcţie opusă de pe cele două regiuni kinetocorice ale fiecărui cromozom. Fibrele kinetocorice servesc la aşezarea în poziţie a cromozomilor în *placa metafazică*. Ele au capetele (+) blocate în kinetocori şi capetele (-) libere. Capetele (+) sunt acelea la care este favorizată polimerizarea tubulinei.

În placa metafazică se produce despicarea longitudinală a cromozomilor, prin care se despart cele două cromatide surori. Prin această clivare longitudinală se dublează numărul de cromozomi (astfel din 60 la taurine rezultă 120) şi repartizarea în mod absolut egal a materialului genetic la celulele fiice.

Anafaza constă în antrenarea cromozomilor spre polii celulei, jumătate din numărul de cromozomi se deplasează spre un pol, iar cealaltă jumătate spre polul opus (fig.5.4)

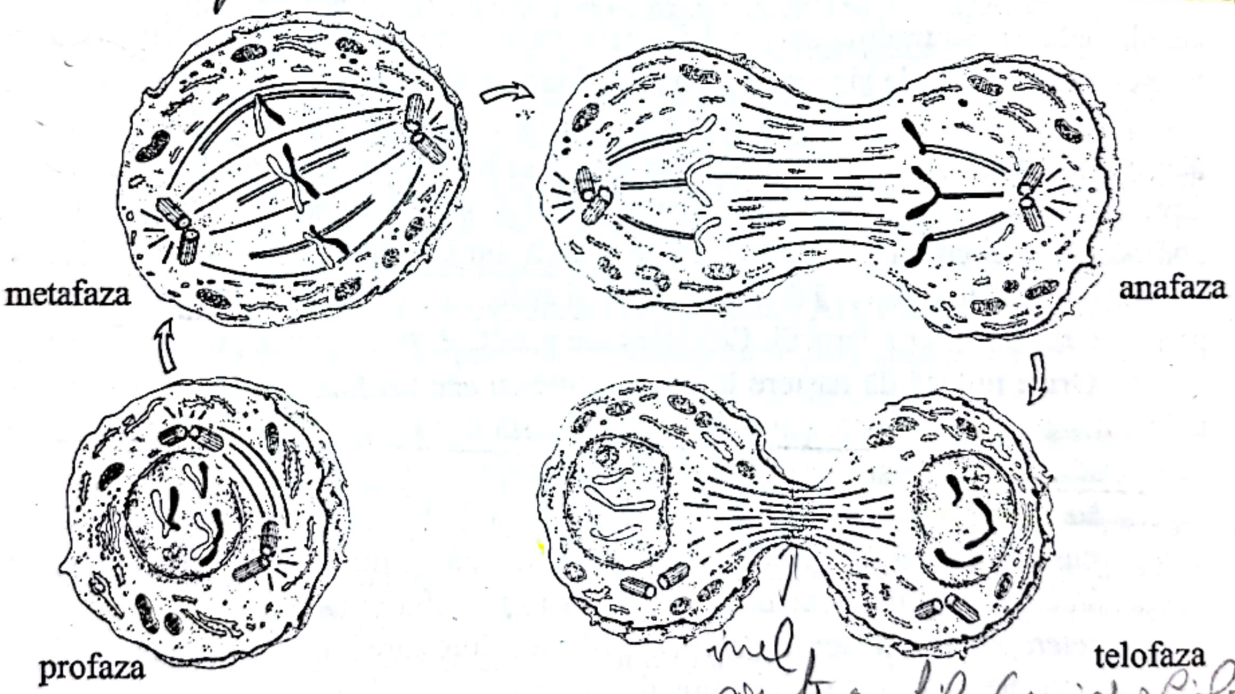


Fig. 5.4. ***Formarea microtubilor de jumătate de fus şi antrenarea cromozomilor spre cei doi poli*** *(Liebich, 1999)*

Deplasarea cromozomilor în anafază este rezultatul a două evenimente independente :

- mişcarea spre poli a fibrelor kinetocorice ce trag cu ele cromatidele ataşate, prin depolimerizarea capetelor libere (-) ale microtubilor. Pe măsură ce are loc depolimerizarea tubulinei, fibrele kinetocorice se scurtează şi astfel cromozomii sunt atraşi spre poli ;

- alungirea prin polimerizare la capătul (+) şi alunecarea unele peste altele a fibrelor polare ce împing cei doi poli, îndepărtându-i unul de altul. Alunecarea fibrelor polare are la bază sistemul motil microtubul-dineină.

Telofaza. În momentul când cele două grupe de cromozomi au ajuns la cei doi poli ai celulei, cromozomii aparent fuzionează în câte un spirem, în jurul căruia se reface membrana nucleară. Defosforilarea lui H_1 şi a proteinelor nehistonice HMG_1 şi HMG_2, conduce la despiralizare şi revenirea la solenoid (*granule de cromatină*). Refacerea învelişului nuclear are loc în urma *defosforilării* proteinelor laminare. Apoi cromozomii organizatori nucleolari induc formarea nucleolului. Nucleul, în acest mod, îşi recapătă structura din interfază, cromatina căpătând aspectul de reţea şi granule, fiecare celulă fiică având o cantitate de cromatină (ADN) egală cu cea de la celula mamă. Apoi, scindarea citoplasmei în cursul *citodierezei (citokinezei)* începe prin apariţia unui şanţ pe suprafaţa celulei care se poate vedea la microscopul electronic cu baleiaj. Sub plasmalemă există un *inel contractil*, format dintr-un mănunchi de microfilamente de actină care începe să fie asamblat încă de la începutul anafazei. Acest inel se contractă prin mecanismul actină-miozină, necesitând Ca^{2+}. Dar spre deosebire de celelalte mişcări ce au la baza lor acest mecanism, în cazul inelului contractil, acesta îşi micşorează diametrul prin depolimerizarea microfilamentelor sale şi anume prin desprinderea actinei globulare (AG).

Cele două celule fiice au suprafaţa totală mai mare decât a celulei mame. De aceea biogeneza plasmalemei celulei animale se intensifică înaintea diviziunii. De fapt, văzută la microscopul electronic cu baleiaj, suprafaţa celulei devine tot mai *„păroasă"*, deci cu tot mai mulţi microvili, încă din faza S a ciclului celular. Celula mamă şi-a pregătit o rezervă de plasmalemă şi astfel şţrangularea este posibilă datorită prezenţei numeroşilor microvili. Celulele fiice rezultate vor avea mai puţini microvili.

Orice mitoză dă naştere la două celule cu acelaşi număr de cromozomi ca celula mamă. Există, însă, patru forme de mitoză după gradul de asemănare dintre cele două celule fiice şi celula mamă:

- *homoplastică* (homotipică) – cele două celule fiice sunt similare între ele şi cu celula mamă; această formă de mitoză, numită şi mitoza egală, se întâlneşte numai la celulele foarte tinere (nediferenţiate);
- *heteroplastică* (heterotipică) – cele două celule care iau naştere sunt similare între ele; dar sunt mai mature, deci diferite de celula mamă; se mai numeşte şi mitoză de diferenţiere;
- *homoheteroplastică* (asimetrică); cele două celule fiice nu seamănă între ele; una seamănă cu celula mamă, iar cealaltă este diferită;
- *mitoza de diferenţiere* (de întinerire) – celula care se divide dă naştere la celule foarte tinere. Această diviziune apare la limfocite.

Mitoza este o fază obligatorie în ciclul celular, ca o consecinţă a fazei biochimice. Factorii care determină mitozele sunt neclarificaţi. Putem grupa factorii în trei mari categorii:

Scanned with OKEN Scanner

- *factori generali* : temperatură, lumină, influenţe hormonale (tiroida, hipofiza), vitaminele ;
- *factori intracelulari* : modificarea *raportului nucleo/citoplasmatic* şi a raportului *nucleolo/nuclear* (prin creşterea citoplasmei, volumul celulei nu mai poate fi controlat de nucleu şi este deci necesară diviziunea celulei) ;
- *factori intercelulari* : sunt cei mai importanţi. În fiecare ţesut există un raport bine stabilit între *celulele mature* în stare de funcţionare, *celulele uzate* şi *celulele care se divid*. Prin retroacţiune („feed-back"), ori de câte ori un grup de celule moare, se declanşează diviziunea în alt grup de celule, astfel că raportul dintre cele trei grupe de celule rămâne aproximativ acelaşi.

5.2.2.2. *Meioza*

Se întâlneşte numai în procesul de maturare a gameţilor (spermatozoidul şi ovulul). Fiecare gamet este o *celulă haploidă (n)*, iar prin unirea lor se formează zigotul, o celulă *diploidă (2n)*. Dacă gameţii ar fi celule diploide, zigotul ar fi tetraploid, adică nu ar fi viabil. Meioza are, prin urmare, o semnificaţie profundă.

Înjumătăţirea numărului de cromozomi, deci a materialului genetic se realizează prin faptul că meioza este alcătuită din două diviziuni indirecte, care se succed una după cealaltă, fără ca între ele să se mai producă sinteza de ADN. Cele două diviziuni se numesc *meioza I* şi *meioza II şi se întâlnesc în cadrul ovogenezei (fig. 5.5) şi spermatogenezei (fig. 5.6)*. La mamifere, meioza I este *diviziunea reducţională*, în timp ce meioza II este o meioză *homeotipică (ecuaţională)*.

Meioza I este un proces foarte complex.

Profaza I este foarte lungă, deoarece replicarea ADN nu se termină în faza S, ci continuă în faza G_2 şi în profază. Profaza este împărţită în 5 faze (fig. 5.7) : *leptoten, zigoten, pahiten, diploten, diachineza*.

Leptoten (de la grec. *leptos* = subţire) - se produce condensarea cromozomilor care iau aspectul filiform leptotenic. Cromozomii leptotenici apar formaţi dintr-o singură cromatidă, deci, ca nişte filamente univalente lungi şi subţiri numite *cromoneme*, răspândite aparent la întâmplare. Cea de a doua cromatidă, nou sintetizată, în faza S a interfazei, nu este vizibilă, fiind slab colorabilă. De aceea, numărul cromonemelor corespunde numărului diploid de cromozomi (2n) al speciei respective.

De-a lungul filamentelor cromonemice se distinge o succesiune de granule mai intens colorate denumite *cromomere*, reprezentând zone cu spiralizare mai accentuată.

La masculi, încă de la începutul leptotenului, cromozomii sexuali X şi Y sunt puternic condensaţi, sunt întârziaţi în replicare şi se prezintă sub forma unui corpuscul intens colorat care poartă numele de *vezicula sexuală*, deşi, mai corectă ar fi denumirea de *corpuscul sexual* sau *corpuscul X-Y*. Acest corpuscul, situat aproape totdeauna la periferia nucleului, poate fi confundat cu nucleolul care este şi el prezent în leptoten, dar care este de dimensiune mai mare. Sub această formă, cromozomii sexuali sunt singurii cromozomi identificabili în leptoten, la masculi.

Scanned with OKEN Scanner

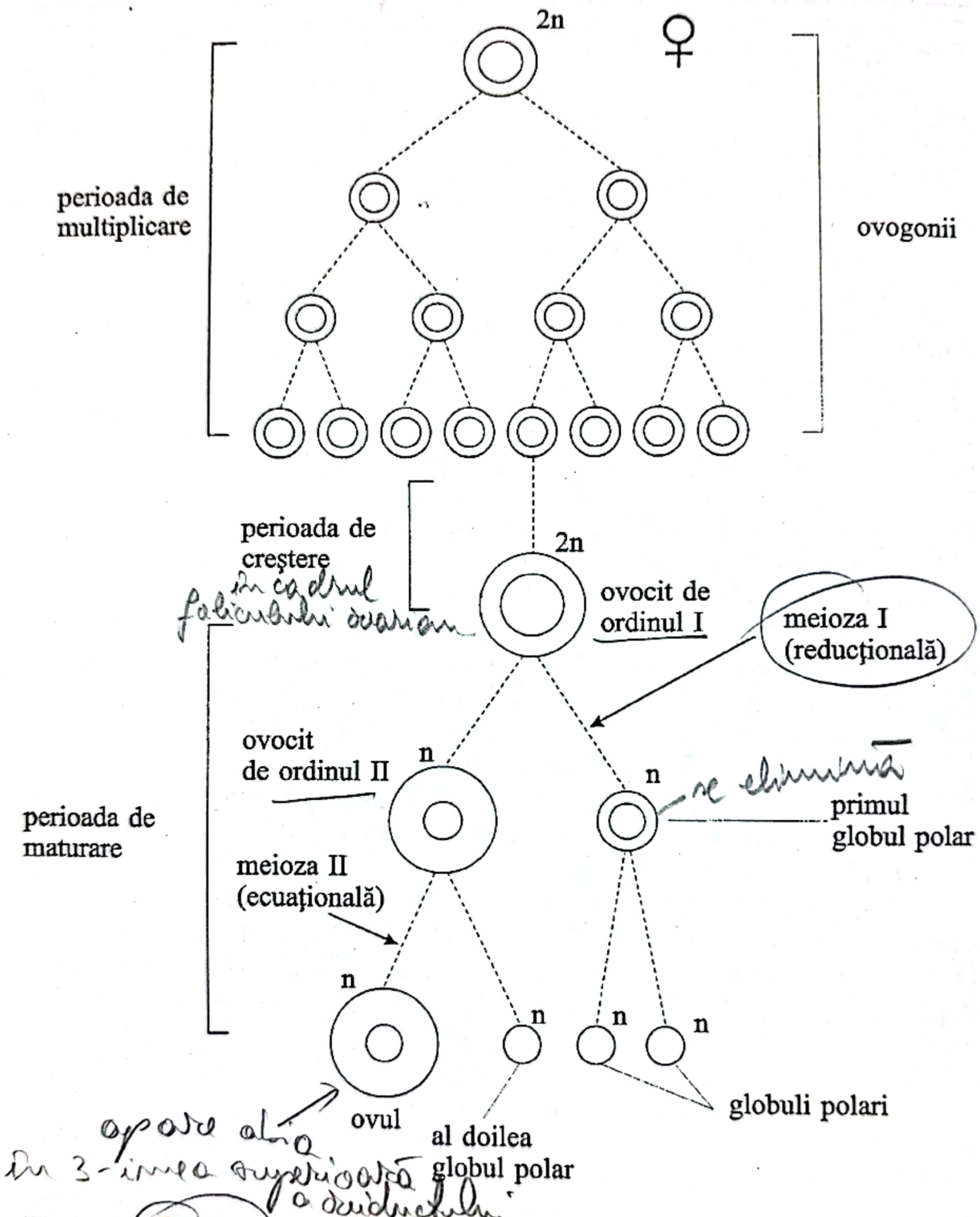


Fig. 5.5. ***Ovogeneza: dintr-un singur ovocit primar (de ordinul I) de la care începe meioza se obţine un singur ovul fecundant (o singură celulă funcţională), celelalte celule fiice degenerează şi se numesc globuli polari (corpusculi polari)***

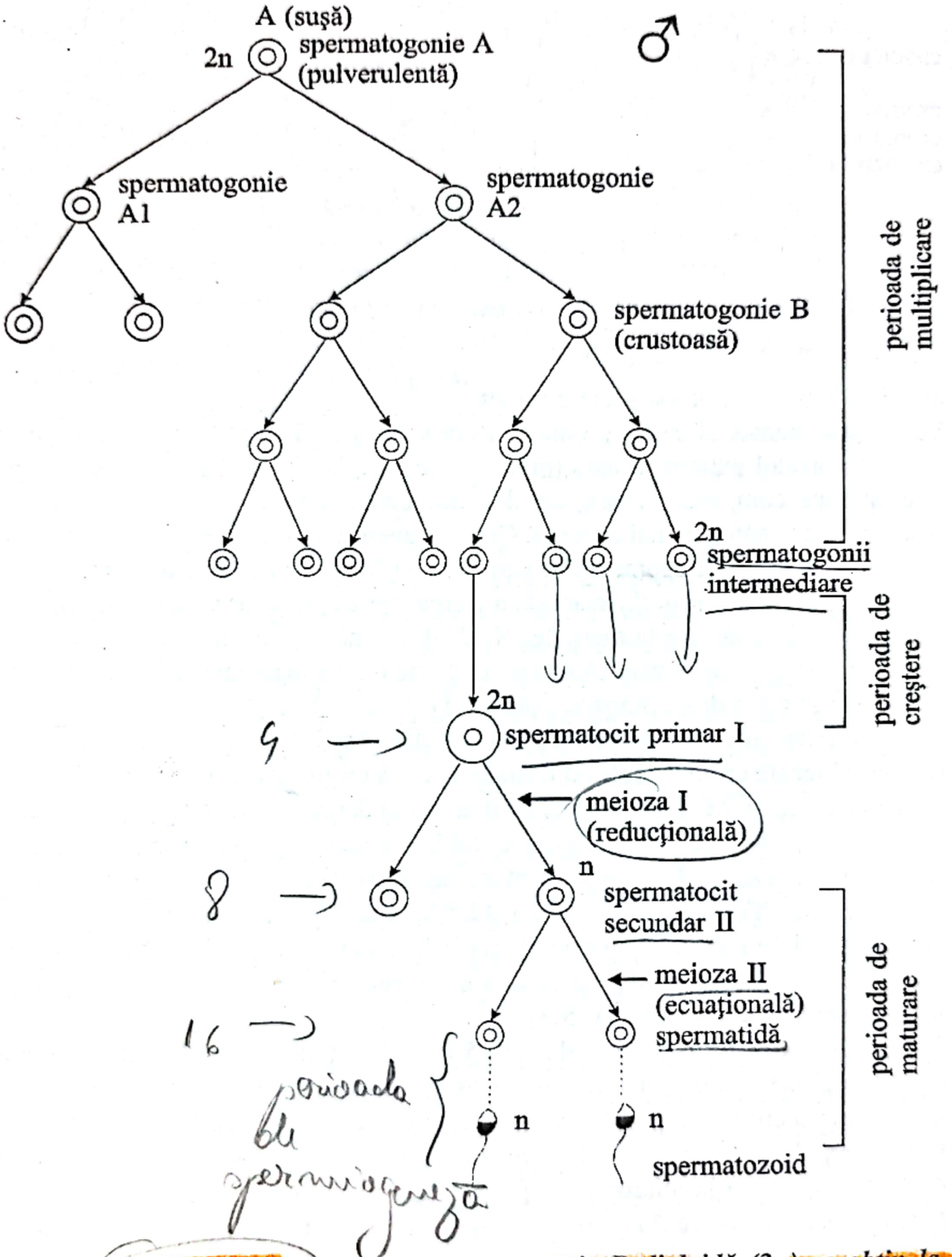


Fig. 5.6. *Spermatogeneza: dintr-o spermatogonie B diploidă (2n) se obţin la sfârşitul meiozei, 16 spermatozoizi; dacă ne referim la spermatocitul primar (de ordinul I), de la care începe meioza dintr-un spermatocit primar rezultă 4 spermatozoizi*

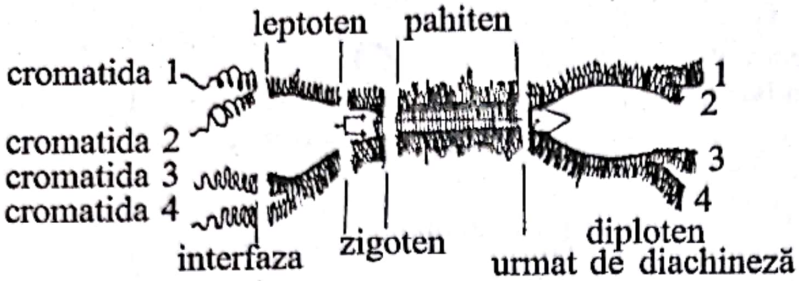


Fig. 5.7. ***Diagrama modificării cromozomilor în profaza I a meiozei I***

Zigoten (de la grec. *zygos* = unire, împerechere) în care cromozomii devin mai groşi şi mai scurţi şi intens colorați. În această fază are loc fenomenul de *conjugare* sau *sinapsă (sinapsis)*, care constă în faptul că, cromozomii omologi din setul matern şi setul patern se apropie margine la margine, pe toată lungimea lor.

La început, contactul dintre cromozomii omologi este limitat la câteva puncte, de obicei la nivelul extremităţilor cromozomilor, dar la sfârşitul zigotenului sinapsa este aproape completă. Astfel, cei doi cromozomi omologi asociaţi formează o structură asemănătoare unui fermoar. Cromomerele sunt o caracteristică morfologică şi în această fază, iar cromozomii sexuali X şi Y sunt în continuare prezenţi sub forma *corpusculului sexual*. În acest *corpuscul sexual*, heterocromozomii sunt uniţi cap la cap şi nu margine la margine. Nucleolul rămâne prezent.

Pahiten (de la grec. *pachiten* = gros) care începe în momentul în care procesul de sinapsă al celor doi cromozomi omologi este complet.

Cei doi cromozomi omologi, strâns împerecheaţi, formează o unitate denumită *bivalent*. Fiecare cromozom fiind format din două cromatide, bivalentul va fi alcătuit din 4 cromatide şi, de aceea, bivalentul mai poartă denumirea de *tetradă cromatidică*. Bivalenţii sunt mai scurţi şi mai groşi decât în zigoten şi, în continuare, posedă de-a lungul lor, *cromomere*. Fiecare bivalent are un număr şi o succesiune caracteristică de cromomere, ceea ce permite identificarea lor în această fază.

În pahiten, cromozomii omologi din bivalent sunt complet şi intim asociaţi, genă la genă, datorită prezenţei a două structuri caracteristice : *complexul sinaptonemal* şi *chiasmele* (fig. 5.8).

Complexul sinaptonemal (fig. 5.8) evidenţiat cu ajutorul microscopiei electronice, este constituit dintr-o axă mediană de natură proteică care mediază împerecherea cromozomilor din bivalenţi. Asocierea intimă, facilitată de complexul sinaptonemal, creează la nivel molecular puncte de contact speciale, denumite *chiasme,* invizibile la microscopul fotonic. La nivelul chiasmelor, cromatidele se pot rupe, ceea ce creează condiţiile unui schimb reciproc de fragmente identice şi egale între cromozomii omologi, fenomen denumit *crossing-over*. Chiasmele reprezintă substratul citologic al proceselor de crossing-over, care realizează o nouă combinaţie a materialului genetic cromozomial identic, dar diferit ca origine, maternă şi paternă.

Scanned with OKEN Scanner

Deci, un fragment ce a fost iniţial pe un cromozom patern, ajunge pe cromozomul omolog matern şi invers. Acest schimb de gene între cromozomii omologi are un rol extrem de important în ereditate, deoarece gametul unui individ va avea în final gene ce provin de la ambii părinţi. Aceasta permite formarea unor cromozomi recombinaţi, în care o parte din gene provin de la cromozomul patern şi alta de la cel matern. Prin urmare, vor rezulta tot patru cromatide într-un cromozom bivalent, dar una este paternă pură, alta maternă pură, iar două cromatide sunt mixte (cele între care s-a făcut schimbul de material genetic).

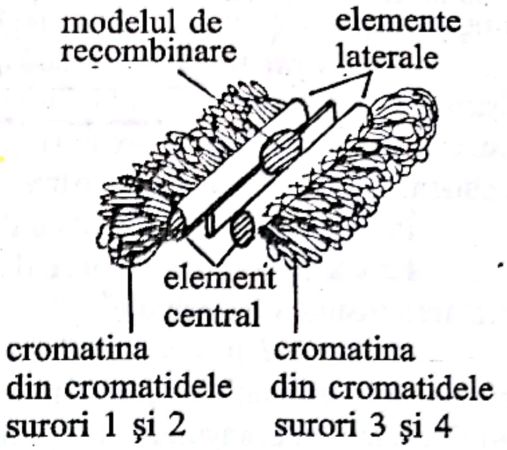


Fig. 5.8. ***Structura complexului sinaptonemal din cromozomul bivalent***

Fenomenul de crossing-over este numit şi *recombinare genetică* sau schimb de gene între cromozomii omologi. Acest fenomen este universal şi are importanţă foarte mare în ereditate. Recombinarea genetică, sub această formă de crossing-over, este una din sursele de variabilitate a organismelor.

La sfârşitul pahitenului, *corpusculul sexual dispare.* De asemenea, *dispar cromomerele.* În concluzie, primele 3 faze ale profazei I *(leptotenul, zigotenul* şi *pahitenul)* prezintă următoarele caracteristici comune: corpusculul sexual X-Y, nucleolul, cromomerele plasate de-a lungul cromozomilor, forţa de atracţie manifestată între cromozomii omologi.

Diploten este iniţiat în momentul în care atracţia dintre cromozomii omologi încetează, complexul sinaptonemal dispare, iar cromozomii componenţi ai bivalenţilor încep să se îndepărteze unul de celălalt datorită unei *forţe de respingere reciprocă (stare de repulsie).* Cromatidele rămân în contact numai la nivelul *chiasmelor* şi, în felul acesta, locurile unde se găsesc chiasmele devin vizibile. În diploten, se remarcă, în mod clar, că fiecare bivalent este alcătuit din doi cromozomi, de unde şi denumirea dată acestei faze.

Numărul chiasmelor şi distribuţia lor sunt caracteristice pentru fiecare bivalent şi determină configuraţia deosebită a bivalenţilor. La taur, o celulă germinală în diploten posedă până la 62 chiasme, revenind fiecărui bivalent câte 1-5 chiasme.

Pe măsură ce diplotenul avansează spre diachineză, bivalenţii continuă să se scurteze, iar chiasmele suferă un proces de alunecare spre extremităţile cromozomilor, proces numit *terminalizare.* Prin procesul de terminalizare se produce o scădere progresivă a numărului de chiasme per bivalent.

Datorită *dezintegrării corpusculului sexual,* cromozomii sexuali X şi Y de la masculi devin vizibili. Se constată că, spre deosebire de autozomi, bivalentul sexual X-Y prezintă gonozomii asociaţi cap la cap (*termino-terminal*) şi, de aceea, are aspect liniar. Nucleolul este prezent şi în această fază.

Scanned with OKEN Scanner

Frecvenţa celulelor germinale în stadiul de *diploten* este foarte mică, ceea ce înseamnă că diplotenul se desfăşoară rapid.

Diachineza se caracterizează prin continuarea contractării cromozomilor şi a distanţării cromozomilor omologi unii faţă de alţii. În diachineză, se remarcă, în mod distinct, cele 4 cromatide ale fiecărui bivalent. Pe măsura avansării diachinezei spre metafaza I, chiasmele se deplasează spre extremităţile cromozomilor, eliberându-i din asociere.

În diachineză, nucleolul se dezintegrează.

La sfârşitul diachinezei se dezorganizează membrana nucleară şi se iniţiază formarea fusului de diviziune.

Metafaza I începe odată cu încheierea formării fusului de diviziune, iar cromozomii, asociaţi în continuare, ating maximum de condensare şi scurtare. De formă ovalară sau angulară, bivalenţii se plasează în planul ecuatorial al celulei, formând placa ecuatorială. Numai bivalentul X-Y are o formă liniară. Orientarea tetradelor pe fusul de diviziune este absolut întâmplătoare, fără să se ţină cont de proveniența maternă sau paternă a cromozomilor componenţi. Procesul de terminalizare este încheiat, fiecare bivalent are cromozomi omologi ataşaţi numai prin chiasmele terminale.

La sfârşitul metafazei I, forţa de respingere dintre cromozomii omologi şi forţa exercitată de centromerii asociaţi fibrelor fusului de diviziune smulg cromozomii omologi din chiasmele terminale şi în acest fel se despart. Prin urmare, la sfârşitul metafazei I nu se produce diviziunea longitudinală a centromerilor aşa cum se întâmplă la sfârşitul metafazei mitotice.

Anafaza I se caracterizează prin migrarea spre polii celulari opuşi ai cromozomilor bicromatidici, prin sistemul motil microtubul-dineină. Cromozomii din anafaza I, structuraţi din două cromatide, se mai numesc *diade*. Fenomenul demn de reţinut al anafazei I este separarea setului diploid de cromozomi (2n) în două seturi haploide (n).

Telofaza I se recunoaşte prin prezenţa a câte unui set haploid de cromozomi bicromatidici la fiecare din cei doi poli ai celulei. Apoi, la ambii poli are loc reconstituirea nucleilor prin apariţia membranei nucleare, nucleolilor şi despiralizarea diadelor. Telofaza I se încheie cu citodiereza şi apariţia celor două celule fiice. În acest mod, meioza I are drept consecinţă reducerea numărului de cromozomi de la setul *diploid* (2n) iniţial al celulei de origine la setul *haploid* (n) al *spermatocitelor secundare* sau *ovocitelor secundare*. Din această cauză, meioza I este denumită şi diviziune *meiotică reducţională*. Deci, meioza I începe cu 2n cromozomi bicromatidici şi se încheie cu n cromozomi bicromatidici (fig. 5.9).

Între meioza I şi meioza II se interpune o scurtă interfază care se deosebeşte de interfaza premeiotică prin aceea că nu se produce replicarea ADN-ului, adică este lipsită de faza S. În funcţie de specie, interfaza este mai mult sau mai puţin scurtă, cromozomii despiralizându-se mai mult sau mai puţin. În unele cazuri, se trece direct din telofaza I în profaza II.

Scanned with OKEN Scanner

Meioza II se desfăşoară, în linii generale, asemenea unei mitoze, fiind deci *homeotipică* sau *ecuaţională*. Meioza II cuprinde fazele: profaza II, metafaza II, anafaza II şi telofaza II.

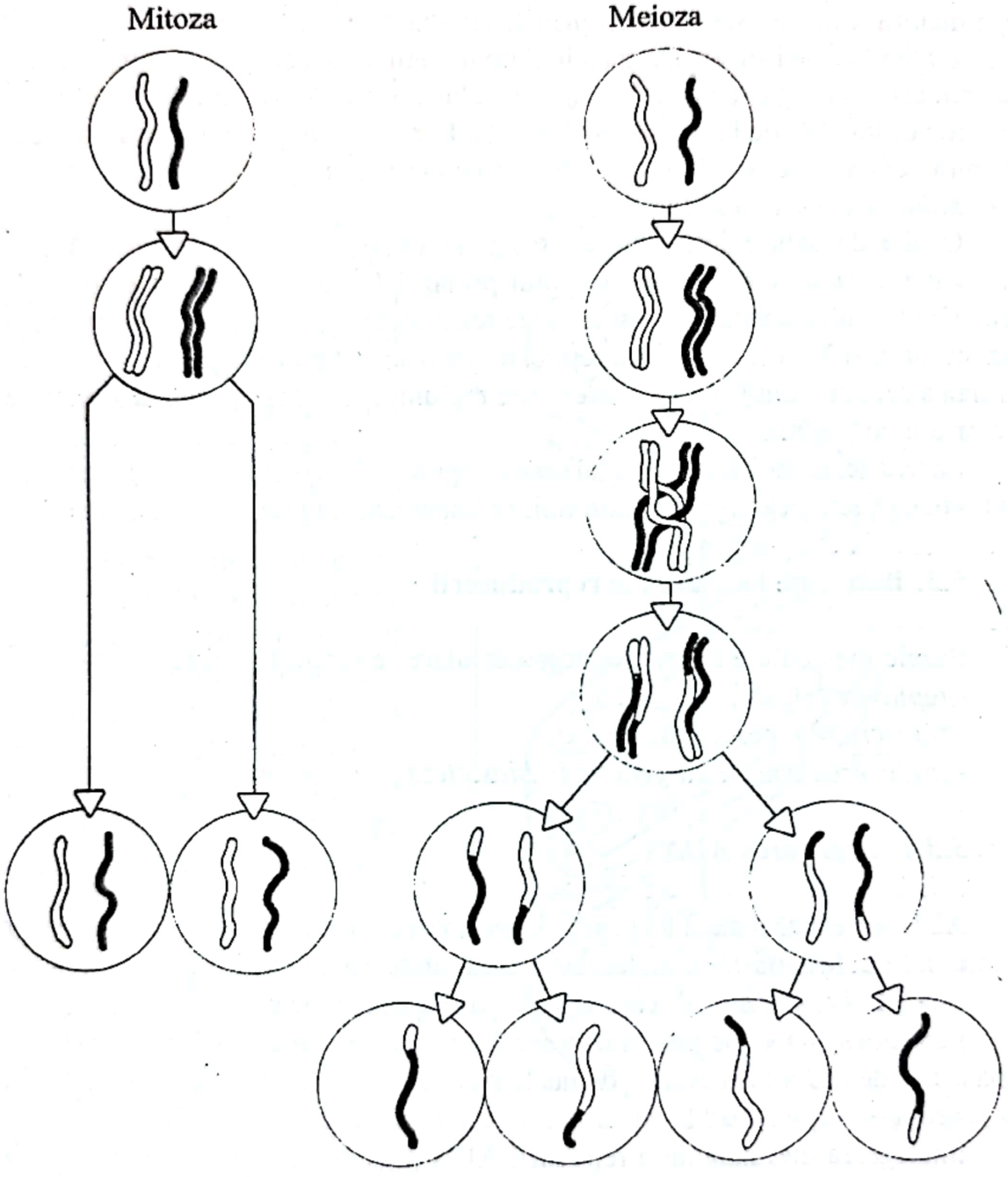


Fig. 5.9. ***Diferenţa dintre mitoză şi meioză*** *(Burkitt şi colab., 1993)*

La cele două sexe de la mamifere, *meioza* prezintă particularităţi în privinţa iniţierii, cronologiei etapelor şi a finalităţii sale.

Scanned with OKEN Scanner

La masculi, meioza începe odată cu spermatogeneza, la instalarea pubertăţii şi apoi este continuă. Pornind de la celula de origine – *spermatogonia B crustoasă* diploidă (2n) – dintr-o spermatogonie B se obţin , la sfârşitul meiozei, 16 spermatozoizi. Dacă ne referim la spermatocitul primar (de ordinul I), de la care începe meioza, dintr-un spermatocit primar rezultă 4 spermatozoizi.

La femele, meioza este iniţiată în timpul vieţii fetale, se întrerupe în diploten şi este reluată în viaţa postnatală, la apariţia ciclurilor estrale. Astfel, dintr-un ovocit primar (de ordinul I), de la care începe meioza I se obţine *un singur ovul* fecundant (o singură celulă fiică funcţională), celelalte celule fiice degenerează şi se numesc *globuli polari (corpusculi polari).*

O altă deosebire între meioza ovogenetică şi cea spermatogenetică este *prezenţa corpusculului sexual* la începutul profazei I la masculi şi *absenţa lui* la femele. Corpusculul sexual, la masculi, este rezultatul asocierii termino-terminale a gonozomilor X şi Y care întârzie în replicare. Prin acest tip de conjugare se asigură realizarea a cel puţin unui crossing-over între regiunile omoloage pseudoautozomice ale celor doi gonozomi.

La femele, nu există corpusculul sexual în profaza I deoarece, cei doi cromozomi X sunt omologi activi care, ca şi autozomii, se împerechează margine la margine.

5.3. Bazele moleculare ale reproducerii

Bazele moleculare ale reproducerii celulare se referă la trei fenomene :
- *replicarea ADN ;*
- *transcrierea mesajului genetic ;*
- *traducerea mesajului genetic în biosinteza proteinelor.*

5.3.1. Replicarea ADN

ADN reprezintă materialul genetic la toate vieţuitoarele care au în compoziţia lor acest acid nucleic. Mecanismele moleculare de transmitere a informaţiei genetice constau în replicarea ADN cromozomial, care se va împărţi apoi în mod egal celulelor fiice.

Replicarea ADN este procesul molecular prin care se realizează copierea fidelă a moleculelor de ADN (a secvenţei de nucleotide) în timpul duplicării cromozomilor. Acest proces are loc în cursul biosintezei ADN în *faza S a ciclului celular.*

Înţelegerea mecanismului replicării ADN presupune cunoaşterea structurii moleculei de ADN (fig. 5.10).

ADN este o macromoleculă compusă din două lanţuri polinucleotidice şi foarte lungi, răsucite unul în jurul celuilalt sub forma unei structuri regulate dublu-helicoidale (aşa-numitul dublu helix sau duplex de ADN). În fiecare lanţ polinucleotidic se evidenţiază o „coloană vertebrală" reprezentată de dezoxiriboze legate prin punţi fosfodiesterice, ce reprezintă partea constantă a moleculei de ADN.

Scanned with OKEN Scanner

În ADN există patru feluri de baze: 2 baze *purinice, adenina* (A) *şi guanina* (G) şi 2 baze *pirimidinice, timina* (T) şi *citozina* (C). Fiecare lanţ polinucleotidic are o polaritate, deoarece la un capăt are *hidroxilul 5' liber,* iar la celălalt capăt are *hidroxilul 3' liber.* Prin convenţie, secvenţa bazelor este scrisă în direcţia 5'——→3' (la fel cum într-o proteină secvenţa este scrisă în direcţia amino——→carboxil). În dublul helix de ADN, cele două lanţuri polinucleotidice sunt *antiparalele,* adică unul din lanţuri are direcţia 5'——→3', iar celălalt 3'——→5'.

Dezoxiribozele legate prin punţile fosfodiesterice se află la exteriorul duplexului ADN, în timp ce bazele purinice şi pirimidinice se află la interiorul helixului. Bazele sunt molecule plate, care sunt aşezate una peste alta, perpendicular pe axul dublei elice. Planurile dezoxiribozelor – şi ele molecule plate – sunt perpendiculare pe cele ale bazelor şi paralele cu axul moleculei.

Cele două lanţuri polinucleotidice sunt menţinute împreună prin *legăturile de hidrogen* dintre baze. Bazele sunt dispuse în perechi: la o bază *purinică* de pe un lanţ îi corespunde o bază *pirimidinică* pe lanţul opus. Unul din cele mai importante aspecte ale structurii ADN este *specificitatea* aranjării bazelor în perechi. Astfel, *adenina* este legată în pereche întotdeauna cu *timina,* iar *guanina* cu *citozina.* Această specificitate rezultă din factorii sterici şi din legăturile de hidrogen. Structura regulată

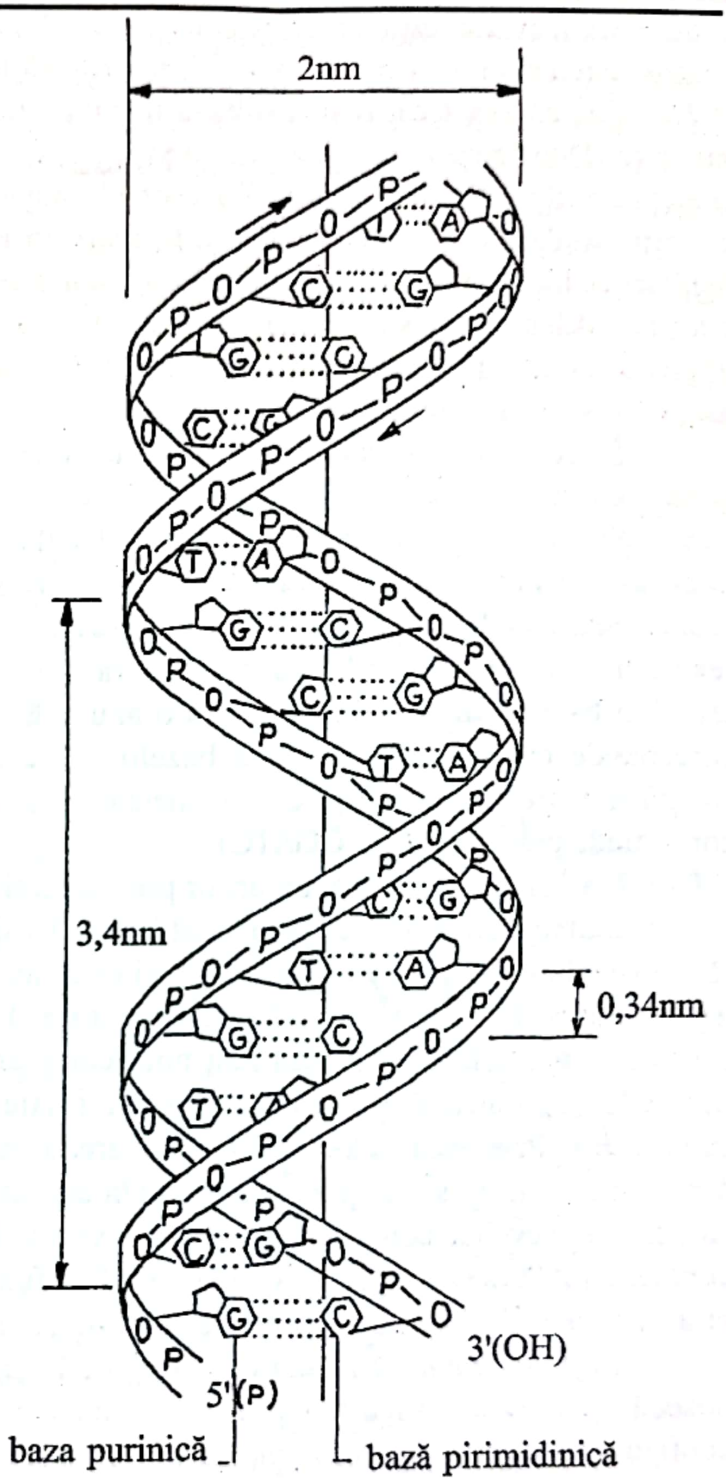


Fig. 5.10. ***Structura ADN-ului***

Scanned with OKEN Scanner

a duplexului ADN, cu diametrul constant de *2 nm*, face ca spaţiul de la interior, dintre cele două coloane vertebrale dezoxiriboză-fosfat să fie întotdeauna de circa *1,1 nm*, adică exact cât ocupă o bază pirimidinică aranjată în pereche cu o bază purinică. Două baze purinice ar ocupa prea mult spaţiu, iar două baze pirimidinice, prea puţin. Specificitatea aranjării în perechi a adeninei cu timina şi a guaninei cu citozina se datorează posibilităţii de formare în acest fel a numărului maxim de legături de hidrogen între baze : *două între adenină şi timină* şi *trei între guanină şi citozină*. Adenina nu s-ar putea lega cu citozina, sau guanina cu timina, fiindcă aranjarea atomilor în acest caz, nu ar permite formarea legăturilor de hidrogen, care asigură stabilitatea moleculei.

Structura helicoidală se repetă la intervale de *3,4 nm* cât este pasul helixului şi pe această distanţă se află *10 nucleotide,* deci *10 perechi de baze (0,34 nm la o bază)*. Numărul de perechi de baze din molecula de ADN variază de la câteva mii până la câteva milioane (3,4 milioane în cromozomul de la *Escherichia coli)*.

Secvenţa bazelor într-un lanţ polinucleotidic izolat nu este supusă nici unei restricţii ; în schimb, pe lanţul pereche va fi strict determinată de specificitatea aranjării bazelor în perechi. Deci, la o anumită secvenţă a bazelor dintr-un lanţ, corespunde o secvenţă precisă a bazelor pe celălalt lanţ, adică lanţurile sunt *complementare* (un lanţ este complementar celuilalt, de ex., la secvenţa GCTAG corespunde pe lanţul opus CGATC).

Complementaritatea lanţurilor polinucleotidice în molecula ADN sugerează mecanismul replicării. Aşa cum au intuit WATSON şi CRICK în 1953, să ne imaginăm că, molecula de ADN se dezrăsuceşte şi cele două lanţuri se separă prin ruperea legăturilor de hidrogen dintre baze. Pe fiecare dintre lanţurile izolate, cu bazele expuse, se poate forma câte un lanţ nou, complementar celui vechi. În acest fel, fiecare lanţ acţionează ca o *matriţă* pentru formarea pe el a unui lanţ complementar cu el însuşi. Prin aceasta s-a realizat dublarea cantităţii de ADN *(4 lanţuri din 2),* dar în acelaşi timp s-a duplicat şi secvenţa de baze nucleotidice, deoarece fiecare lanţ are o secvenţă complementară celui vechi. S-a realizat deci *replicarea* sau *duplicarea ADN.* Deoarece molecula de ADN funcţionează ca matriţă pentru propria sa formare, procesul se numeşte şi *autoreplicare.*

Noţiunea de matriţă sau tipar trebuie înţeleasă aici ca o macromoleculă ce posedă o suprafaţă specifică. Pe suprafaţa matriţei există zone cu o anumită configuraţie tridimensională (spaţială), pe care se poate lega în mod specific, numai câte un anumit monomer, ce are o configuraţie complementară cu a matriţei.

Asamblarea macromoleculelor pe matriţă intervine în replicarea ADN, în biosinteza ARN şi în biosinteza proteinelor.

Mecanismul replicării ADN, în care, în fiecare moleculă de ADN nou formată, unul din lanţuri provine din molecula mamă (iniţială), iar celălalt lanţ este nou sintetizat, se numeşte *replicare semiconservativă.*

Replicarea ADN în cromozomul circular de la E. coli a putut fi evidenţiată la microscopul electronic, prin tehnica numită *autoradiografie.*

Scanned with OKEN Scanner

Replicarea începe întotdeauna în acelaşi punct numit *origine.* Din acest punct pleacă într-o parte şi în alta câte o *furculiţă de replicare,* locul în care se produce simultan dezrăsucirea ADN parental şi sinteza ADN pe fiecare din cele două lanţuri separate; deci, locul în care din două lanţuri se formează patru lanţuri polinucleotidice. Când ambele furculiţe de replicare se întâlnesc de partea opusă a cercului, replicarea s-a terminat şi s-au format doi cromozomi circulari, fiecare având un lanţ nou şi unul vechi. Separarea moleculelor noi de cromozomul original a fost comparată cu desfacerea unui fermoar.

Replicarea ADN, implică acţiunea mai multor factori proteici şi enzimatici. Procesul este mai bine cunoscut la procariote, dar se admite că în esenţă, se produce similar şi la eucariote.

Replicarea începe cu dezrăsucirea celor două lanţuri polinucleotidice din dublul helix ADN *parental* (fig. 5.11). Această dezrăsucire este favorizată de ruperea unuia din cele două lanţuri la nivelul „coloanei vertebrale" riboză-fosfat, la o distanţă de circa *3 nm* de furculiţa de replicare în direcţia opusă replicării, prin acţiunea unei enzime *(ADN-topoizomeraza).*

În lungul cromozomului, originile furculiţelor de replicare nu apar la întâmplare, ci în grupe de 20-80, situate toate într-o anumită zonă a cromozomului. Fiecare grupă se numeşte *unitate de replicare (replicon).* Repliconii se activează treptat în decursul fazei S a ciclului celular. Zonele de heterocromatină sunt ultimile activate.

Furculiţele de replicare se deplasează cu aceeaşi viteză în tot cursul fazei S. Când ele ajung să se întâlnească pe tot cromozomul , replicarea se termină şi se despart cei doi cromozomi. Dezrăsucirea este apoi facilitată de proteine specifice de dezrăsucire *(proteine de stabilizare a helixului),* care se leagă pe lanţul izolat de ADN, împiedicând astfel răsucirea lui.

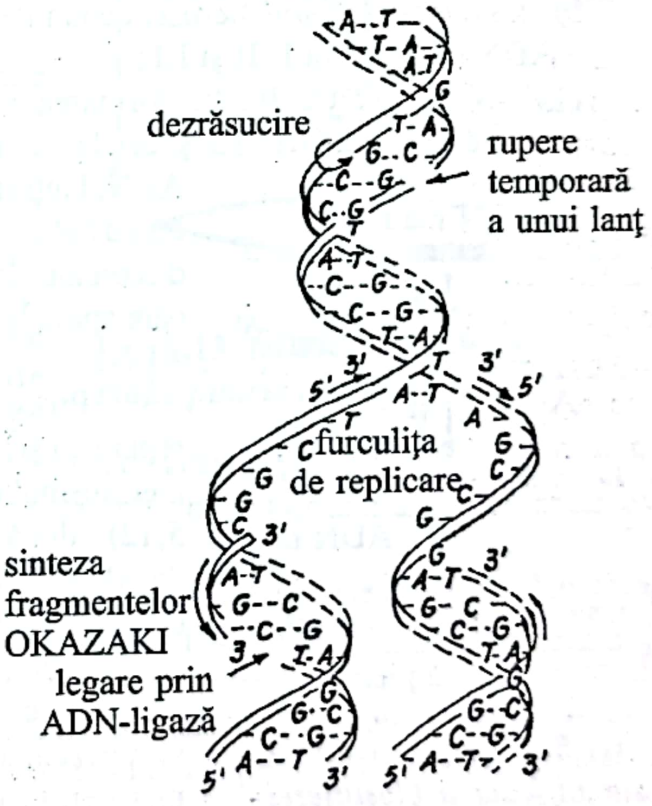


Fig. 5.11. *Schema replicării ADN*

Pe măsură ce are loc dezrăsucirea, pe fiecare din cele două lanţuri polinucleotidice se formează o replică, deci este sintetizat un lanţ nou cu o secvenţă complementară de nucleotidă. Deoarece lanţurile în duplexul de ADN sunt antiparalele, înseamnă că în replicare ar urma ca

unul din lanţurile nou formate să crească în direcţia 5'——→3'; iar celălalt în direcţia 3'——→5'. Însă, enzimele care sintetizează ADN numite *ADN polimeraze* nu pot acţiona decât în direcţia 5'——→3' şi numai aparent unul din lanţurile nou formate creşte în direcţia 5'——→3' şi celălalt în direcţia3'——→5'. În esenţă, pe fiecare din lanţurile parentale separate, ADN-ul nou sintetizat se formează ca fragmente mici de circa *1000 nucleotide,* care sunt apoi legate între ele. Fragmentele mici sunt numite *fragmente Okazaki* după numele descoperitorului lor. Deci, procesul sintezei ADN este discontinuu.

Enzimele care intervin în biosinteza ADN sunt următoarele :

a) ARN-polimeraza. Această enzimă sintetizează câte un fragment scurt de ARN (de cca *100 nucleotide)* pe fiecare din lanţurile de ADN parental ce serveşte ca matriţă. Sinteza ARN se face prin asamblarea pe matriţa de ADN a ribonucleotidelor complementare activate sub forma *ribonucleozid-trifosfaţilor*. Rezultatul acţiunii ARN-polimerazei este un *primer* de ARN cu grupa 3'OH liberă, *primer* necesar pentru începerea sintezei propriu-zise de ADN cu ajutorul ADN-polimerazelor ;

b) există *trei ADN-polimeraze,* denumite în ordinea descoperirii lor la E.coli : ADN-polimeraza I, II şi III ;

c) ADN-ligaza : catalizează formarea unei legături fosfodiesterice între două capete (unul cu OH în 3' şi celălalt cu un fosfat la 5'), ale unor fragmente de ADN, lanţuri ce fac parte dintr-o moleculă de ADN dublu helicoidal. ADN-ligaza închide „spărturile", discontinuităţile din ADN, exact procesul opus celui care apare la începutul desperecherii lanţurilor din ADN.

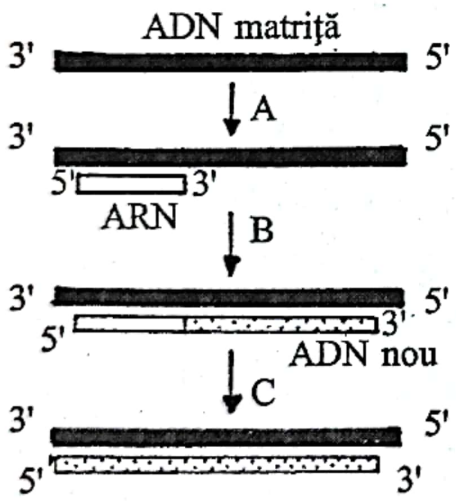


Fig. 5.12. ***Reprezentarea simplificată a biosintezei ADN***

Procesul este important în sinteza ADN, repararea şi recombinarea genetică. Se poate schiţa mecanismul biosintezei ADN în felul următor (fig. 5.12) : după desperecherea lanţurilor din molecula de ADN parentală, pe fiecare lanţ, se sintetizează câte un primer de ARN prin acţiunea ARN-polimerazei.

În continuarea primerului de ARN se sintetizează lanţuri de ADN complementare matriţei, prin acţiunea ADN-polimerazei III.

Se formează fragmente Okazaki în direcţia 5'——→3' pe ambele lanţuri. Urmează excizia fragmentului primer de ARN sub acţiunea ADN-polimerazei I ; pe măsură ce aceasta îndepărtează câte un ribonucleotid, adaugă imediat dezoxiribonucleotidul corespunzător. În final, fragmentele nou sintetizate vor fi legate între ele prin *acţiunea ADN-ligazei.*

Scanned with OKEN Scanner

5.3.1.1. Particularităţile replicării la eucariote

Diferenţele între procariote şi eucariote în privinţa replicării se datorează complexităţii organizării cromatinei la eucariote, la care ADN-ul este complexat cu histone în *nucleozomi*, care se succed la intervale de circa 200 perechi de baze în lungul ADN. Probabil de aceea *fragmentele Okazaki ce se formează la eucariote sunt mai mici* ca la procariote, având 100-200 nucleotide, iar primerul de ARN, 10-20 nucleotide.

Tot datorită nucleozomilor se poate explica şi *viteza de 10 ori mai mică a replicării la eucariote* faţă de procariote (50 nucleotide pe secundă, faţă de 500 la procariote).

Întreaga replicare are loc în faza S a ciclului celular. Aceasta se realizează prin începerea replicării pe fiecare cromozom simultan în mai multe puncte de origine. Două puncte de origine vecine sunt separate de 30000-300000 nucleotide.

La fiecare origine apar două furculiţe de replicare ce se deplasează pe direcţii opuse în lungul cromozomului. Apar astfel structuri ca nişte „*ochi*", numite *bule de replicare* (fig. 5.13).

În lungul cromozomului, originile furculiţelor de replicare nu apar la întâmplare, ci în grupe de 20-80, situate toate într-o anumită zonă a cromozomului. Fiecare grupă se numeşte *unitate de replicare (replicon)*. Repliconii se activează treptat în decursul fazei S a ciclului celular. Zonele de heterocromatină sunt ultimele activate.

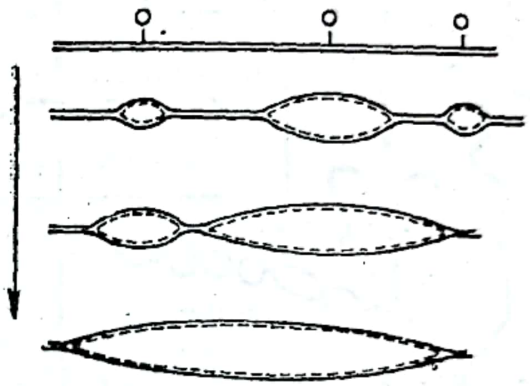


Fig. 5.13. ***Începerea replicării în mai multe puncte la eucariote***

Furculiţele de replicare se deplasează cu aceeaşi viteză în tot cursul fazei S. Când ele ajung să se întâlnească pe tot cromozomul, replicarea se termină şi se despart cei doi cromozomi.

Replicarea ADN-ului are loc paralel cu sinteza de histone care, spre deosebire de alte proteine din celulă sunt sintetizate numai în faza S a ciclului celular. Se pare că odată sintetizate şi asamblate în nucleozomi, histonele nu mai părăsesc ADN-ul de care s-au legat. Astfel, în cursul replicării, miezul nucleozomului rămâne asociat de ADN şi toţi miezii vechi trec numai pe unul din duplexuri, în timp ce pe celălalt duplex de ADN se leagă numai miezi nou sintetizaţi.

ADN-polimerazele la eucariote (nucleare, mitocondriale şi din cloroplaste) sunt diferite de cele de la procariote.

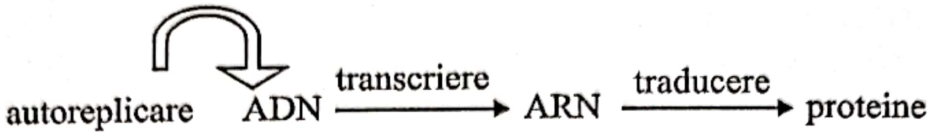
5.3.2. Transcrierea mesajului genetic

5.3.2.1. Conceptul de ARN-mesager

Genele acţionează determinând sinteza de proteine de către celulă. Totuşi, nu ADN-ul este matriţa pe care se sintetizează proteinele, ci moleculele de ARN.

Scanned with OKEN Scanner

Transmiterea informaţiei genetice se reprezintă prescurtat sub forma (fig. 5.14), numită *dogma centrală a biologiei moleculare.*



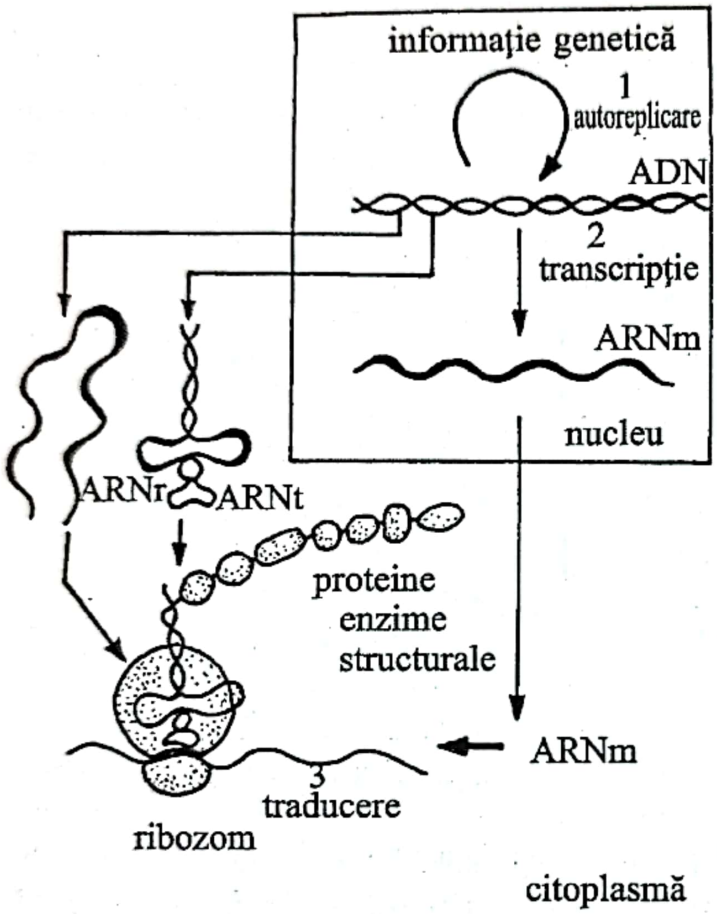


Fig. 5.14. ***Fluxul informaţiei genetice în celula eucariotă***
1-autoreplicare ; 2-transcriere ; 3-traducere

Există deci două etape în exprimarea informaţiei genetice : *transcrierea ei din ADN în ARN* şi *traducerea mesajului conţinut în ARN în sinteza de proteine.* Moleculele de ARN care poartă informaţia genetică necesară pentru biosinteza proteinelor se numesc *ARN mesageri* (ARN_m). Pe lângă aceştia mai există încă două categorii de ARN în celulă, implicate direct în biosinteza proteinelor : *ARN de transfer* (ARN_t) şi *ARN ribozomal* (ARN_r). ARN_t transportă aminoacizii într-o formă activată la ribozomi pentru formarea legăturilor peptidice în secvenţa dictată de matriţa de ARN_m. Există cel puţin câte un ARN_t pentru fiecare aminoacid. ARN_r este o componentă majoră a ribozomilor. ARN_m este o moleculă sintetizată pe matriţa de ADN şi are o secvenţă a bazelor complementare ADN-ului matriţă. Pentru fiecare genă se sintetizează câte o moleculă de ARN_m, care va servi la rândul ei ca matriţă pentru sinteza proteinei codificată de gena respectivă.

Conceptul *ARN mesager* a fost introdus în 1961 de JACOB şi MONOD. Era evident că din moment ce genele se află în nucleu, iar sinteza proteinelor se petrece în citoplasmă, trebuie să existe un *mesager* al genei care să transfere informaţia de la nucleu la ribozomi, sediul biosintezei proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

5.3.2.2. Mecanismul molecular al biosintezei ARN

Mecanismul molecular al biosintezei ARN pe matriţă de ADN este asemănător pentru toate tipurile de ARN. Enzima care catalizează sinteza ARN pe matriţa de ADN este numită *ARN-polimerază-ADN-dependentă (transcriptază).* Această enzimă necesită următoarele componente pentru sinteza ARN :

a) matriţa ADN dublu helicoidal ;

b) precursori activaţi (ribonucleozid-trifosfaţi) : ATP, GTP,UTP, CTP ;

c) Mg^{2+} ori alte metale bivalente.

Reacţia catalizată de ARN-polimerază este următoarea :

$$(ARN)_n \text{ resturi+ribonucleozid-trifosfat} \rightleftharpoons (ARN)_{n+1} \text{ resturi+PPi}$$

Sinteza ARN este similară sintezei ADN în unele privinţe : direcţia de sinteză este 5'⟶3' (antiparalelă lanţului matriţă de ADN), iar mecanismul de alungire al lanţului este oarecum similar, producându-se eliberarea acidului pirofosforic din ribonucleozid-trifosfat. Ulterior, acidul pirofosforic este hidrolizat cu eliberare de energie.

Biosinteza ARN diferă totuşi de biosinteza ADN prin :

1) matriţa ADN este pe deplin păstrată (conservată) în sinteza ARN, fiind numai semiconservată în sinteza ADN ;

2) ARN-polimeraza nu necesită un primer ;

3) ARN-polimeraza nu are activităţi nucleazice.

La E.coli există o singură ARN-polimerază care sintetizează atât ARN_m, cât şi ARN_t şi ARN_r. La eucariote sunt mai multe ARN-polimeraze (cele din clasa A produc ARN_r, clasa B ARN_m şi clasa C ARN_t). Enzima de la E.coli are masa moleculară de aproape 500000 şi este compusă din mai multe subunităţi : *două subunităţi alfa, una beta, una beta prim* şi una sigma σ (fig. 5.15). Toate aceste subunităţi asociate formează *holoenzima* ($2\alpha\beta\beta'\sigma$). Subunitatea σ se poate desprinde din enzimă, celelalte subunităţi formând *corpul* sau *miezul enzimei*, numit încă şi *enzima minimală* ($2\alpha\beta\beta'$), ce conţine centrul activ.

Subunitatea σ este cea care serveşte la recunoaşterea punctului de pe matriţa ADN de unde începe transcrierea.

Se pot distinge câteva *etape ale procesului de transcriere* (fig. 5.16).

1. Legarea ARN-polimerazei de matriţa ADN în *regiunile promotoare* care sunt recunoscute în mod specific de subunitatea s.

2. *Iniţierea* lanţului de ARN, prin legarea ARN-polimerazei de regiunile promotoare dinADN, se produce dezrăsucirea locală a helixului de ADN, ceea ce favorizează formarea primei legături

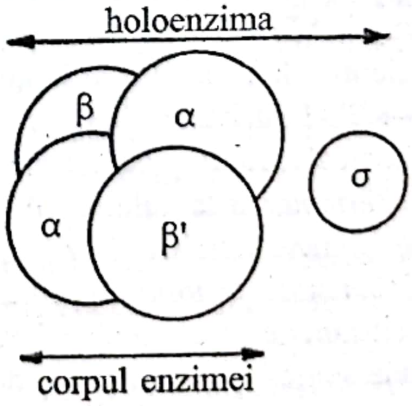


Fig. 5.15. ***Schema structurii ARN-polimerazei***

fosfodiesterice a noului lanţ. Capătul 5' terminal este format întotdeauna de GTP sau ATP. Imediat după iniţierea polimerizării ARN, subunitatea σ se desprinde din enzimă şi se ataşează de o altă moleculă de enzimă minimală pentru a iniţia transcrierea în altă regiune promotoare.

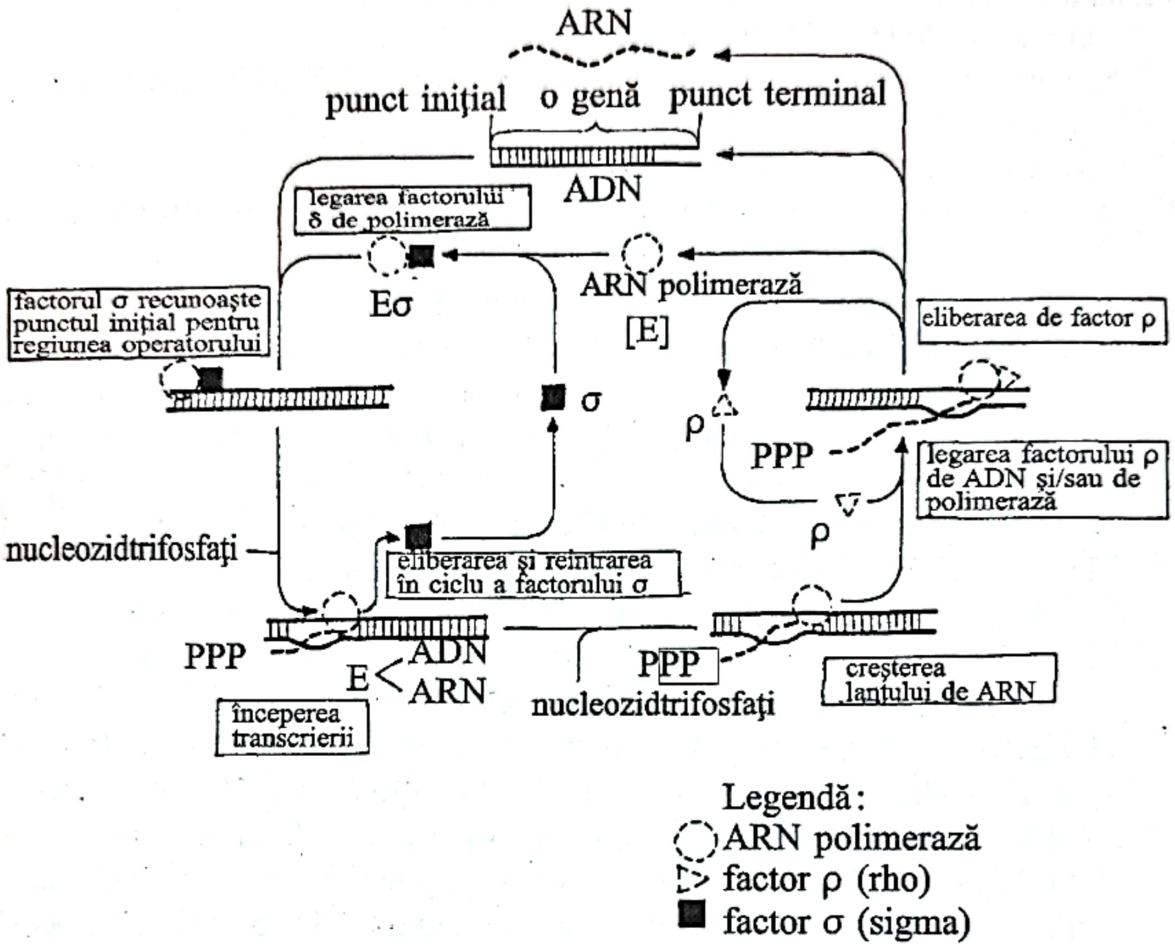


Fig. 5.16. ***Schema biosintezei ARN (transcrierea mesajului genetic)***

3. *Alungirea* lanţului de ARN se face de către miezul 2αββ' care se deplasează pe matriţa ADN în direcţia 3'⟶5', catalizând la fiecare deplasare adaosul unui nucleotid, la capătul 3' al lanţului de ARN. Deci, lanţul de ARN creşte în direcţia 5'⟶3'. Matriţa de ADN care a fost deja transcrisă îşi reia conformaţia dublu helicoidală, în timp ce porţiunea următoare se dezrăsuceşte.

4. *Terminarea* lanţului de ARN se face prin recunoaşterea pe matriţa de ADN a unor puncte terminale. Aceste semnale sunt recunoscute de către o proteină specifică, numită *factorul rho (ρ)*, care se leagă de ARN-polimerază. În absenţa factorului ρ (tetramer cu masa moleculară 200000), ARN-polimeraza poate recunoaşte numai unele semnale de terminare de pe matriţa de ADN. De aceea, ARN sintetizat în absenţa factorului ρ este mai lung decât în mod normal. Când ajunge la un punct de terminare, ARN-polimeraza disociată de pe ADN, eliberează noul ARN sintetizat.

Scanned with OKEN Scanner

5. Unele molecule de ARN suferă o *maturare* sau *prelucrare* după desprinderea de pe matriţa ADN. Aceste procese constau din: a) activarea lanţului de ARN în lanţuri mai mici, de pildă, dintr-un ARN 45 S rezultă două molecule: ARN 28 S şi ARN 18 S; b) metilarea unor grupări OH din riboză sau din bazele purinice şi pirimidinice cu ajutorul S-adenozil-metioninei.

Ieşirea din nucleu a ARN_m la eucariote se pare că se face sub forma asociată cu precursorii ribozomali formaţi la nivelul nucleolilor, pe traiectul porilor nucleari.

În procesul transcrierii ar exista teoretic posibilitatea ca fiecare din lanţurile de ADN ale unei gene date să fie copiat de câte o moleculă de ARN. Ar urma să existe pentru fiecare genă două lanţuri ARN_m complementare, care ar codifica două proteine diferite. S-a demonstrat însă, că numai unul din cele două lanţuri de ADN este copiat şi deci, o *genă codifică o singură proteină.*

5.3.3. Traducerea mesajului genetic în biosinteza proteinelor

Informaţia genetică stocată în moleculele de ADN este transcrisă, copiată, în ARN mesager şi este apoi tradusă în sinteza de proteine. Deci, mesajul genetic stocat sub forma secvenţei de baze în ADN este transcris în secvenţa de baze din ARN_m şi apoi tradus în secvenţa aminoacizilor din proteine. Până în prezent s-a considerat că secvenţa de nucleotide din ADN este copiată în secvenţa de nucleotide din ARN_m, astfel fiecărui codon din ADN îi corespunde un codon în ARN_m şi un aminoacid în lanţul polipeptidic. Recent s-a constatat că *la eucariote unele gene apar „discontinuie",* adică secvenţele din ADN care codifică aminoacizii *(exoni)* sunt separate prin segmente de ADN care nu codifică *(introni),* care nu se exprimă în secvenţa de aminoacizi în lanţul polipeptidic.

Explicaţia constă în îndepărtarea din molecula de ARN_m precursor (ce apare prin transcrierea genei) a porţiunilor ce corespund intronilor, urmată de legarea cap la cap a fragmentelor rămase (fig. 5.17). Procesul se numeşte înnădire *(splicing)* şi se produce în nucleu în cursul maturării ARN_m. Deci, porţiunile îndepărtate nu mai ajung la ribozomi, nu mai pot fi traduse în ribozomi. Astfel, se apreciază că din totalul ADN-ului *celulei eucariote,* doar 4-6 % este transcris în ARN şi numai 1% este tradus în lanţuri polipeptidice.

În acizii nucleici există patru baze diferite, pe când în proteine sunt 20 aminoacizi diferiţi, este clar că trebuie să existe un cod, o formă cifrată prin care *patru baze* pot determina legarea în proteine a *20 aminoacizi.*

Codul genetic este relaţia dintre secvenţa bazelor în ADN (sau în ARN_m) şi secvenţa aminoacizilor în proteine. În esenţă „cuvintele codului" sunt reprezentate de grupuri de câte trei nucleotide, numite *codoni.* Fiecare codon, deci, fiecare secvenţă de trei nucleotide (sau baze) din ADN (sau din ARN_m) specifică un aminoacid (adică determină legarea unui aminoacid în proteină). De exemplu, codonul *U-U-U* (secvenţa *uridină-uridină-uridină)* specifică *fenilalanina.* Există 64 de „cuvinte" ale

Scanned with OKEN Scanner

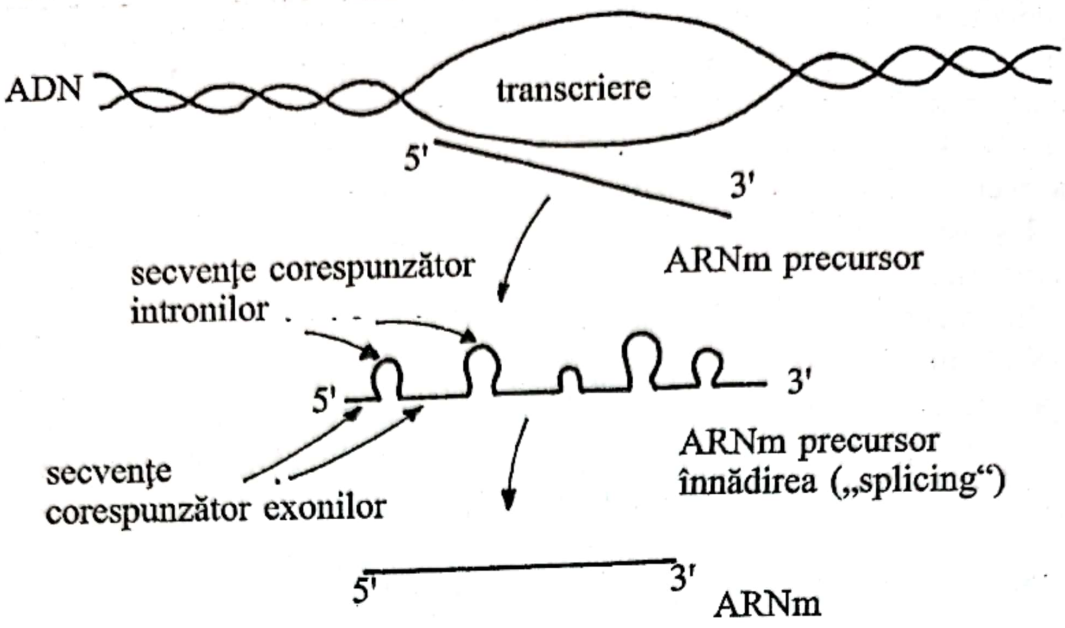


Fig. 5.17. ***Schema procesului de înnădire (splicing) a ARN$_m$***

codului corespunzând combinaţiilor posibile de *patru baze* luate câte trei, cu repetarea bazelor în cadrul combinaţiei de 3, astfel că un aminoacid poate fi specificat de mai mulţi codoni (aşa-zisa *degenerare* a codului). Există şi trei codoni care nu specifică nici un aminoacid, ci determină terminarea lanţului polipeptidic (sunt numiţi *codoni nonsens).* Deci din cei 64 codoni, numai 61 codifică aminoacizi. Codul genetic este acelaşi în toate celulele, de la bacterii până la om (deci este *universal).*

Traducerea limbajului de 4 litere (bazele) în acizii nucleici în limbajul de 20 litere (aminoacizi) din proteine se face la nivelul ribozomilor. În ribozomi, deci, se citeşte mesajul genetic de pe ARN$_m$ şi are loc asamblarea aminoacizilor în proteine. În biosinteza proteinelor participă ribozomii, ARN$_m$, o serie de proteine solubile, precum şi aminoacizii activaţi prin legarea de ARN$_t$.

5.3.3.1. ARN de transfer sau solubil

ARN de transfer (ARN$_t$) se mai numeşte ARN solubil (ARN$_s$) datorită solubilităţii mari în acizi.

Molecula de ARN$_t$ are un loc de *legare a aminoacidului* şi un *loc de recunoaştere a matriţei de ARN$_m$*. Aceasta din urmă este reprezentată de o secvenţă de trei baze, numită *anticodon.* Anticodonul de pe ARN$_t$ recunoaşte secvenţa complementară de trei baze din codonul de pe ARN$_m$ şi în acest fel are loc racordarea specifică a aminoacidului de matriţă. Există un număr mare de tipuri diferite de ARN$_t$ pentru cei 20 de aminoacizi diferiţi. Pentru acelaşi aminoacid pot exista mai multe molecule diferite de ARN$_t$.

Scanned with OKEN Scanner

Toate speciile de ARN_t au o structură asemănătoare : 4 regiuni cu perechi de baze complementare şi patru regiuni fără baze complementare numite *bucle* (fig. 5.18). Cele patru regiuni cu perechi de baze complementare se numesc *tulpini*.

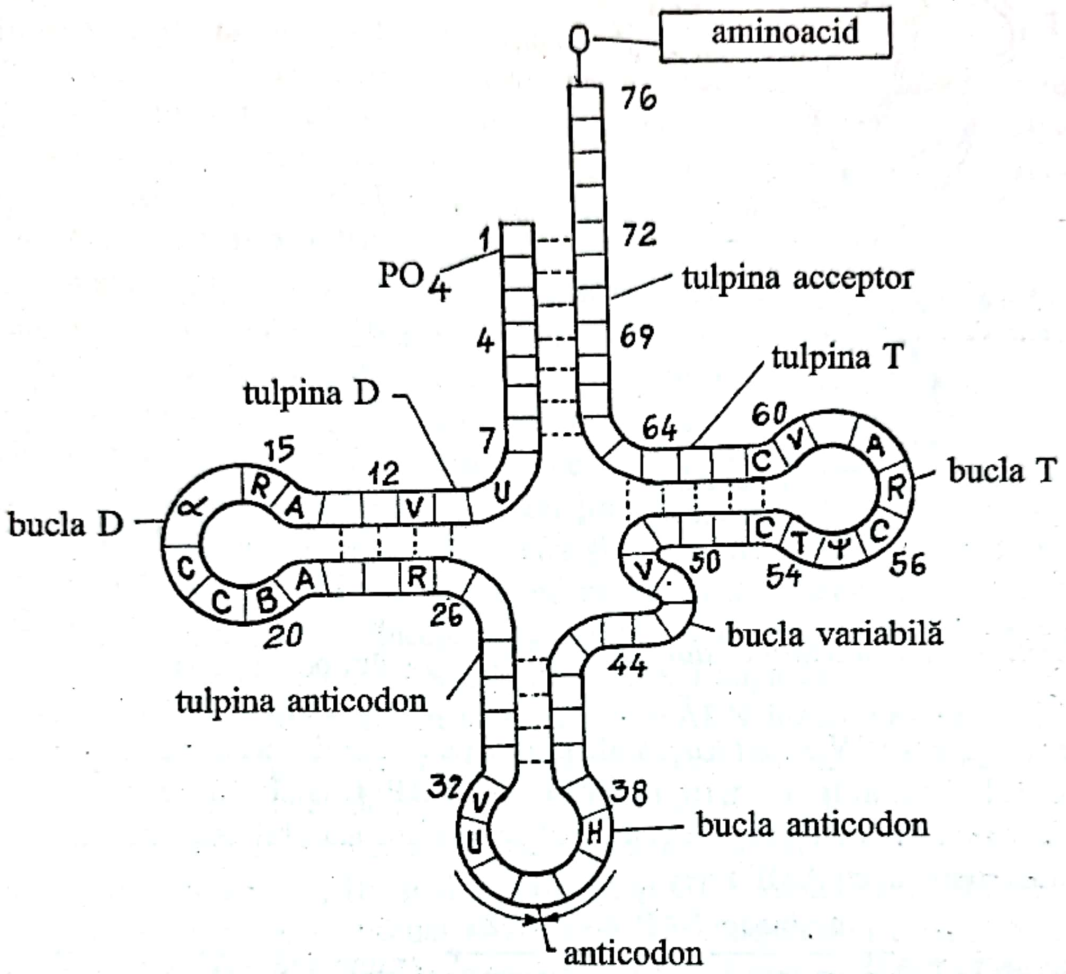


Fig. 5.18. ***Diagrama indicând plierea lanţului ARN_t cu formarea celor patru tulpini şi patru bucle***

Formarea legăturilor de hidrogen între bazele complementare determină apariţia în cele patru tulpini a structurii de dublu helix. Molecula de ARN_t are formă de „L", cele două braţe cuprinzând fiecare câte o regiune de dublu helix ; braţul lung cuprinde tulpinile *D* şi *anticodon*, iar braţul scurt cuprinde tulpinile *„T"* şi *acceptor* (fig. 5.19). Deci cele două regiuni dublu helicoidale sunt perpendiculare una pe alta şi conţin fiecare câte *10 perechi de baze,* corespunzând la câte o tură de dublu helix. Formarea regiunilor de dublu helix conferă moleculei o mare stabilitate, iar buclele ce proemină în afară pot interacţiona specific cu alte grupări de atomi. Anticodonul se află la capătul *braţului lung din „L"*, în timp ce aminoacidul este legat la capătul braţului scurt din „L".

Scanned with OKEN Scanner

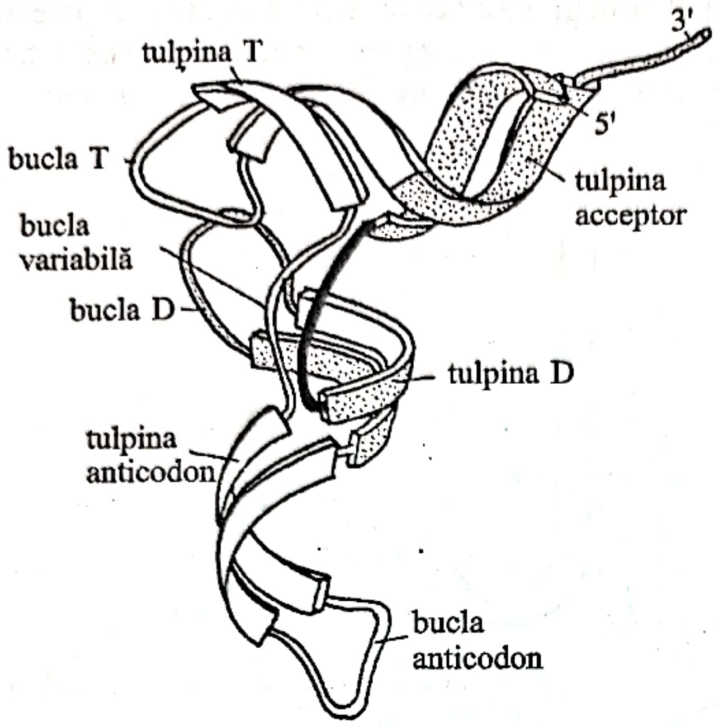


Fig. 5.19. ***Structura tridimensională a ARN$_t$***

Funcţia principală a ARN$_t$ este de a lega specific aminoacizii liberi din citoplasmă şi de a-i transporta în ribozomi, asigurând legarea lor în lanţul polipeptidic în secvenţa dictată de ARN$_m$. Legarea aminoacidului pe ARN$_t$ este catalizată de o enzimă numită *aminoacid-ARN$_t$-sintetază.* Există câte o enzimă specifică pentru fiecare aminoacid (deci cel puţin *20 enzime diferite*), dar aceeaşi enzimă poate lega aminoacidul de ARN$_t$ diferiţi. Aminoacidul este legat prin gruparea sa carboxilică de OH din poziţia 3' a ribozei de la capătul 3' al ARN$_t$.

Aminoacid-ARN$_t$-sintetaza catalizează două reacţii succesive. În prima, aminoacidul este activat prin legarea de AMP formându-se compusul *aminoacidadenilat* în care gruparea carboxilică a aminoacidului este unită printr-o legătură macroergică cu AMP:

$$\text{aminoacid} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{aminoacid-ARN}_t\text{- sinteză}} \text{aminoacid} \sim \text{AMP} + \text{P - P}_i$$

Produsul intermediar *aminoacid ~ AMP* rămâne legat de enzimă până la ciocnirea cu o moleculă de ARN$_t$ specifică pentru aminoacidul respectiv. Aceeaşi enzimă transferă aminoacidul pe ARN$_t$ după reacţia:

$$\text{aminoacid} \sim \text{AMP} + \text{ARN}_t \xrightleftharpoons{} \text{aminoacid} \sim \text{ARN}_t + \text{AMP}$$

Echilibrul reacţiilor este deplasat puternic spre dreapta datorită hidrolizei acidului pirofosforic care se formează în prima reacţie.

Complexul aminoacid ~ ARN$_t$ se mai numeşte şi *ARN$_t$ încărcat.* Consecinţa legării aminoacidului sub forma activată de ARN$_t$ este că energia legăturii macroergice aminoacid-ARN$_t$ poate fi folosită ulterior în ribozomi la formarea legăturii peptidice mai săracă în energie.

De asemenea, faptul că aminoacidul este legat de ARN$_t$ prin gruparea carboxilică, implică desprinderea moleculei de ARN$_t$ pentru ca să se poată forma legătura peptidică.

Scanned with OKEN Scanner

Structura moleculei de ARN_t este perfect adaptată funcţiei sale. De aceea, moleculele de ARN_t de la toate vieţuitoarele au o structură asemănătoare. ARN_t este o moleculă universală, la fel cum codul genetic este universal.

5.3.3.2. ARN ribozomal

Toate speciile de ARN ribozomal (ARN_r) sunt sintetizate în nucleu, respectiv în nucleol şi formează două subunităţi: *subunitatea mică* (40 S) care părăseşte nucleul împreună cu molecula de ARN_m; *subunitatea mare* (60 S) care se va uni în citoplasmă cu subunitatea mică, formând împreună ribozomul (vezi 3.6.1).

5.3.3.3. Mecanismul molecular al sintezei proteinelor în ribozomi

Lanţul polipeptidic este sintetizat în ribozomi în direcţia .

Cu excepţia perioadelor când sunt angajaţi în sinteza unei proteine, ribozomii se află disociaţi în subunităţi. Asocierea celor două subunităţi, deci, formarea ribozomului funcţional, se produce numai când începe sinteza lanţului polipeptidic.

Se descriu trei faze ale sintezei proteinelor (la fel ca la sinteza ADN şi ARN): *faza de iniţiere, faza de elongare* şi *faza de terminare.* Aceste procese sunt mai bine cunoscute la procariote, mecanismul de bază fiind acelaşi în toate celulele.

1. *Faza de iniţiere* începe cu formarea produsului *formilmetionil - ARN_t*. Metionina se leagă de un ARN_t specific (ARN_{tf}) după care *gruparea amino* este blocată prin formilare. Formilarea metioninei pe ARN_t iniţiator este esenţială pentru începerea sintezei proteinelor la bacterii. În continuare, formilmetionil ARN_{tf} împreună cu subunitatea *30 S* a ribozomului şi cu ARN_m formează un *complex de iniţiere 30 S.* Pentru formarea complexului sunt necesare şi trei proteine, numite *factori de iniţiere:* IF_1, IF_2 şi IF_3; precum şi GTP. Subunitatea 30 S se leagă de ARN_m pe un loc specific situat la circa 10 nucleotide de la capătul 5' al ARN_m (factorul IF_3 joacă rol important în această legare). *Formilmetionil-ARN_t* se leagă de complex recunoscând codonul AUG (sau GUG) de pe ARN_m, legarea fiind accentuată de factorul IF_2. În continuare, de complexul de iniţiere 30 S se leagă subunitatea 50 S, formându-se complexul de iniţiere 70 S. În acesta formilmetionil - ARN_t ocupă locul din ribozomi numit *peptidil* (P). În ribozomi mai există un al doilea loc adiacent, numit *aminoacil (A),* care în complexul de iniţiere este gol. Complexul este pregătit pentru faza de elongare. Legarea subunităţii 50 S este însoţită de hidroliza GTP.

2. *Faza de elongare* constă în trei subfaze: a) *inserţia unui aminoacid;* b) *formarea legăturii peptidice;* c) *translocarea.*

a) *Inserţia* constă în legarea pe locul A din ribozom a unui alt *aminoacid-ARN_t*. Specia inserată este în funcţie de codonul de ARN_m care se află în locul A, deoarece anticodonul de pe aminoacid-ARN_t trebuie să corespundă codonului. Pentru inserţie sunt necesari GTP şi o proteină solubilă din citosol, numită *primul factor de elongare* (EF_{Tu}). Când aminoacid-ARN_T este legat de locul A, are loc hidroliza GTP, GDP şi factorul EF_{Tu} se desprinde de

Scanned with OKEN Scanner

ribozomi. Apoi are loc refacerea GTP prin acţiunea celui de al doilea factor de elongare, numit EF_{Ts}, reacţie prin care se reface complexul GTP cu EF_{Tu}. Astfel se reface complexul GTP cu EF_{Tu} pentru a începe o nouă elongare.

b) Urmează *formarea unei legături peptidice* prin transferul *formilmetioninei* (de pe locul P) pe gruparea amino din *aminoacid-ARN$_t$* (deci pe locul A). Reacţia este catalizată de *peptidiltransferază,* o enzimă ce face parte din subunitatea 50 S a ribozomului. Ca urmare a formării legăturii peptidice pe locul P rămâne un ARN_t descărcat, iar pe locul A este un *dipeptidil-ARN$_t$*.

c) În etapa de *translocare* se produc trei mişcări : a) *ARN$_t$* descărcat părăseşte locul P ; b) *peptidil-ARN$_t$* se mută de pe locul A pe locul P ; c) simultan cu această deplasare şi ARN_m se mişcă cu trei nucleotide spre capătul 3'. În acest fel, codonul următor de pe ARN_m este gata pentru a fi citit de către anticodonul unui aminoacid-ARN_t corespunzător. Translocarea necesită un al *treilea factor de elongare,* numit *EFG* sau *translocază,* precum şi hidroliza unui alt GTP.

După translocare, ciclul elongării se repetă, deoarece pe locul A se inseră un alt aminoacid-ARN_t şi anume, cel care urmează în secvenţa lanţului polipeptidic şi este specificat de codonul din ARN_m aflat în locul A. În acest fel mesajul genetic reprezentat de codonii din ARN_m este citit de anticodonii din ARN_t şi tradus în formarea de legături peptidice, între aminoacizi în secvenţa specificată de gena copiată de ARN_m.

3. *Faza de terminare* a sintezei lanţului polipeptidic apare în momentul când pe locul A din ribozomi ajung codonii nonsens *(UAA, UGA* sau *UAG).* Celulele normale nu au ARN_t cu anticodoni complementari acestor semnale de oprire a sintezei proteinelor. Aceşti codoni sunt însă recunoscuţi de către proteine specifice, numite *factori de eliberare* (RF_1 şi RF_2). Aceste proteine se leagă de locul A şi determină hidroliza legăturii dintre polipeptid şi ARN_t pe locul P (prin activarea *peptidiltransferazei*). În acest fel este eliberat lanţul polipeptidic terminat care părăseşte ribozomul. Urmează apoi disocierea ribozomului în subunităţile 30 S şi 50 S, ca un preludiu la sinteza unei molecule proteice (fig. 5.20).

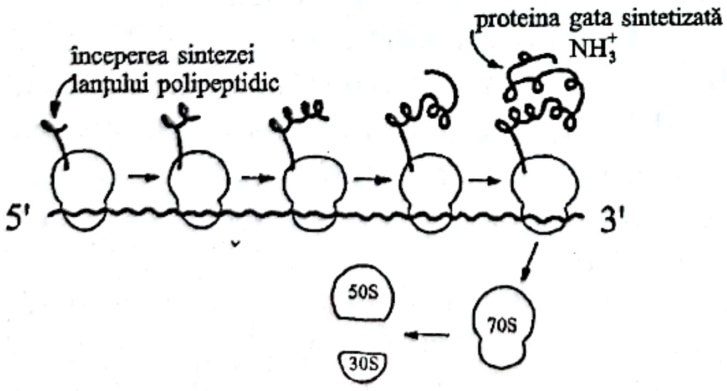


Fig. 5.20. ***Eliberarea lanţului polipeptidic sintetizat în poliribozom***

La eucariote, sinteza proteinelor în ribozomi de tip 80 S prezintă unele deosebiri, faţă de procariote – ribozomi de tip 70 S.

Astfel, iniţierea lanţului polipeptidic are loc prin *metionil-ARN$_t$* care nu este formilat. Clivarea metioninei are loc mult mai frecvent ca la bacterii (la E.coli 45 % din proteine au metionina drept *aminoacid N-terminal*). Apoi, la eucariote

Scanned with OKEN Scanner

factorii proteici solubili (de iniţiere, elongare etc.) sunt diferiţi. Merită subliniat că la eucariote factorii de iniţiere sunt mai numeroşi şi mai complecşi. Mai mult, ei controlează viteza sintezei proteinelor. Astfel, inactivarea IF_2 (prin fosforilare) duce la scăderea vitezei sintezei proteinelor.

Viteza sintezei proteinelor este foarte mare la bacterii, astfel în lanţul polipeptidic se leagă 20-40 aminoacizi pe secundă, iar la eucariote circa 1 aminoacid pe secundă (sinteza moleculei de hemoglobină cu toate cele patru lanţuri polipeptidice durează circa 3 minute). Viteza mare se datoreşte elongării foarte rapide.

Numărul de lanţuri polipeptidice care pot fi sintetizate pe o moleculă de ARN_m este diferit la procariote faţă de eucariote. Astfel, în cazul eucariotelor ARN_m are la capătul 5' structura compusă din *7-metil-guanozină* şi *trifosfat*. Se pare că aceasta joacă un rol crucial în recunoaşterea semnalului de începere a sintezei lanţului polipetidic. Întotdeauna codonul AUG aflat cel mai aproape de acest „cap" din ARN_m este recunoscut drept codon de iniţiere. Nici un alt codon AUG nu poate servi în acest scop. Deci la *eucariote* pe *fiecare moleculă de ARN_m se sintetizează un singur lanţ polipeptidic.*

În schimb la *procariote* ARN_m nu are adausuri la capete, dar posedă mai mulţi codoni de iniţiere şi de terminare pe aceeaşi moleculă. Aceasta face ca la procariote pe o moleculă de ARN_m să fie sintetizate mai multe lanţuri polipeptidice. Porţiunea din ARN_m care codifică un lanţ polipeptidic se numeşte *cistron*. Fiecare cistron începe cu un *codon de iniţiere* (unde se leagă ribozomii) şi se termină cu un *codon nonsens* (aici ribozomii termină sinteza unui lanţ polipeptidic), dar la codonul de iniţiere următor reîncep sinteza unei alte proteine. Deci ARN_m la bacterii este de obicei *policistronic,* pe când la eucariote este întotdeauna *monocistronic.*

Scanned with OKEN Scanner

6. DIFERENŢIEREA, ÎMBĂTRÂNIREA ŞI MOARTEA CELULEI

6.1. Diferenţierea celulară

Procesul de constituire a unor tipuri celulare deosebite, stabile, pornind de la o singură celulă, celula ou (zigot) este denumit *diferenţierea celulară.*

Diferenţierea este un proces esenţial în biologie deoarece este fenomenul cheie al însăşi apariţiei şi existenţei individului. Este implicată în: a) reproducere, formarea de noi indivizi ai unei specii; b) creşterea şi dezvoltarea organismului; c) regenerarea celulelor sau ţesuturilor lezate sau uzate în cursul vieţii; d) evoluţia speciilor şi adaptarea organismului la mediu.

Procesul diferenţierii nu este limitat în timp, se desfăşoară pe tot parcursul vieţii individului. Începe din momentul concepţiei şi nu încetează decât odată cu moartea individului. Viaţa individului cuprinde trei perioade biologice importante: a) *ontogeneza;* b) *creşterea, dezvoltarea şi maturitatea;* c) *îmbătrânirea şi moartea.*

Intensitatea şi amploarea fenomenelor diferenţierii sunt variabile în cursul acestor etape ale vieţii. Maxima de intensitate este înregistrată în embriogeneză.

La mamifere, diferenţierea celulară este un *proces ireversibil*, nici o celulă diferenţiată nu mai poate recăpăta caracterele celulelor embrionare din primele stadii.

Fecundaţia (unirea *spermatozoidului* cu *ovulul*) este evenimentul cu care debutează diferenţierea celulară la mamifere. Zigotul şi celulele rezultate din primele două diviziuni pot genera prin diferenţiere oricare din tipurile celulare funcţionale ale adultului. Toate aceste celule au un potenţial maxim de diferenţiere, şi sunt denumite *celule pluripotente.*

Din punct de vedere genetic, zigotul şi primii săi descendenţi sunt celulele pluripotente, deoarece întreg setul de gene din nucleu este depresat (toate *genele sunt active*).

Orice mesaj genetic pe care-l primesc este acceptat, deci orice traseu evolutiv poate fi imprimat acestor celule.

Grefarea acestor celule pe diverse regiuni ale unui embrion de vârstă mai avansată (la care soarta celulelor este definitivată) arată că se pot integra perfect în regiunea suport şi generează structuri specializate, deosebite în funcţie de indicaţia genetică primită de la *regiunea suport.*

În cursul embriogenezei se hotărăşte soarta celulelor pluripotente. Fiecare celulă este obligată să aleagă un traseu evolutiv anumit (să evolueze spre un anumit tip de celulă specializată), în urma intervenţiei unor factori. Celulele care au suferit influenţa acestor factori primesc numele de *celule determinate* (determinate să parcurgă o anumită cale evolutivă). În cursul embriogenezei, asupra celulei acţionează mai mulţi factori determinanţi.

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea micşorează progresiv numărul de tipuri celulare specializate, care pot lua naştere din celulele embrionare. Ex. : din celulele morulei pot rezulta prin diferenţiere toate tipurile de celule adulte. Mai târziu, în momentul constituirii celor trei foiţe embrionare, din fiecare foiţă mai pot rezulta doar un număr limitat de celule, şi anume : din *ectoderm,* celule nervoase şi epiteliale ; din *mezoderm,* celule conjunctive, musculare şi epiteliale ; din *endoderm,* celule epiteliale.

Factorii ce impun celulelor alegerea unui anumit parcurs evolutiv, deci diferenţierea spre un anumit tip de celulă specializată sunt cunoscuţi sub denumirea de *inductori.*

Inductorii sunt o categorie de factori cu rol determinant. Pentru ca acţiunea lor asupra celulei să fie posibilă, celulele *„ţintă"* (asupra cărora acţionează inductorii) trebuie să primească anumite mesaje, influenţe directoare pentru a deveni *celule permisive (permeabile la inductori).* Acţiunea inductorilor este posibilă doar dacă intervin în momentul în care celula este *permisibilă.*

În esenţă, diferenţierea celulară se realizează prin intervenţia unui grup heterogen de factori – *inductori* – care acţionează iniţial asupra unei populaţii de *celule pluripotente,* apoi asupra unor *celule determinante* (direcţionate). În ontogeneză, numărul determinărilor succesive coincide cu numărul inductorilor. Inductorii şi determinarea creează, în final, *celulele stem (celulele de origine)* din care vor lua naştere anumite tipuri de celule specializate (de ex., celulele stem din măduva osoasă hematogenă, sunt cap de serie pentru leucocite, hematii şi plachete sanguine). În organismul adult, nu mai există celule pluripotente. Fiecare ţesut şi fiecare organ are însă rezerve de celule stem, incomplet diferenţiate (excepţie fac ţesutul *muscular cardiac* şi *nervos).*

Din celulele stem, prin continuarea programului de diferenţiere se pot reface celule adulte specializate. Din punct de vedere genetic, starea de celulă diferenţiată se poate asocia la unele specii cu scăderea sau cu amplificarea cantităţii de ADN din nucleu. La mamifere, starea de celulă diferenţiată este caracterizată prin păstrarea aceleaşi cantităţi de ADN ca şi în celulele pluripotente. Caracterele generale ale celulelor diferenţiate sunt expresia fenotipică a numărului de gene nerepresate din genotip.

Diferenţierea se produce în două etape :

a) Diferenţierea intracelulară. Într-un anumit moment, în interiorul celulei au loc modificări structurale succesive care sunt responsabile de apariţia formei şi structurilor specifice, celulei diferenţiate. De ex. : în spermiogeneză au loc o serie de transformări în urma cărora se dezvoltă *microtubulii* (aparatul de mişcare), astfel încât dintr-o celulă globuloasă – spermatogonia -, rezultă o celulă alungită cu flagel - *spermatozoidul.*

b) Diferenţierea intercelulară. Ca rezultat al modificărilor structurale suferite de un grup restrâns de celule dintr-o populaţie mai mare, uniformă, apar diferenţierile intercelulare (diferenţe între caracterele celulelor iniţiale şi caracterele celulelor provenite din celule iniţiale).

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere biochimic, diferenţierea coincide cu acumularea unei substanţe specifice, de regulă proteină cu funcţie enzimatică (de ex., în *hematii* se acumulează *hemoglobină ;* în *celulele musculare, actina* şi *miozina* etc.). În alte situaţii, celula poate prezenta activităţi enzimatice specifice (*enterocitul*).

Rezultatul funcţional al diferenţierii este apariţia unor funcţii specifice fiecărui tip celular constituit (celula musculară este contractilă ; spermatozoidul este capabil de motilitate ; hematia este capabilă de legarea şi transportul gazelor în sânge, etc.).

6.1.1. Caracterele generale ale celulelor diferenţiate

1. *Funcţia specifică.* Principalul obiectiv al diferenţierii este formarea unor celule foarte strict specializate funcţional, dar în acelaşi timp cooperante. Numai în felul acesta se poate asigura viabilitatea unui sistem celular, atât de mare şi de complex ca organismul animal.
2. *Structura specifică.* Celulele specializate au formă şi structură corespunzătoare unei anumite dezvoltări a organitelor celulare necesare îndeplinirii funcţiei specifice (de ex. celulele implicate în *sinteza de proteine* au *reticulul endoplasmic rugos* şi *complexul Golgi foarte dezvoltate ; celulele musculare contractile*, care au aparatul de contracţie foarte dezvoltat – *microfilamentele de actină şi miozină* – şi *reticulul endoplasmic neted* responsabil de cuplarea excitaţiei cu contracţia).
3. *Compoziţia chimică specifică.* Diferenţierea este însoţită de acumularea unor proteine specifice sau de instalarea unei activităţi enzimatice specifice.
4. *Adezivitatea pe substrat.* Prin această proprietate se realizează formarea ţesuturilor şi a organelor, atunci când mai multe pături celulare vin în contact.
5. *Joncţionarea* (interrelaţia cu alte celule). Prin joncţiunile intercelulare se realizează solidarizarea celulelor între ele în cadrul unui ţesut. Datorită faptului că prin anumite joncţiuni se poate efectua transportul unor molecule cu rol de reglare funcţională a celulelor dintr-o populaţie, devine, astfel posibilă funcţionarea sincronă ca un tot unitar a celulelor din ţesuturi.
6. *Inhibiţia capacităţii de diviziune.* Celulele diferenţiate sunt greu divizibile sau indivizibile. Din punct de vedere al capacităţii de diviziune, se disting două categorii de celule : a) *celulele diferenţiate indivizibile :* neuronul, celula musculară cardiacă, hematia, etc. şi b) *celule diferenţiate divizibile,* care au un ritm variat de diviziune, reglat în funcţie de necesităţi : *hepatocitele.* Cu cât gradul de specializare este mai avansat, capacitatea de diviziune a celulei este întârziată sau inhibată. Ţesuturile în care celulele specializate au o durată de viaţă foarte scurtă datorită unei funcţionări intense, ca de ex. ţesutul epitelial din intestin, conţin celule tinere, incomplet diferenţiate, capabile de diviziune pentru autoîntreţinere şi pentru refacerea populaţiei de celule adulte specializate.

Scanned with OKEN Scanner

7. Inhibiţia de contact. Prin această proprietate, atunci când densitatea celulară dintr-un ţesut atinge un anumit grad, celulele sunt oprite din migrare şi proliferare. De ex.: în cursul regenerării epiteliilor după lezare, celulele se divid şi migrează dinspre cele două laturi ale plăgii până în momentul în care ajung în contact. Fenomenul se poate observa şi în culturile de celule.

6.2. Îmbătrânirea şi moartea celulei

În viaţa multor celule se pot distinge următoarele stadii (faze), vizibile prin microcinematografie: 1) *stadiul de funcţionare normală;* 2) *îmbătrânirea (senescenţa);* 3) *agonia;* 4) *moartea celulară.*

Principalele modificări morfologice ale celulelor îmbătrânite sunt: 1) *scăderea volumului celular*; 2) *scăderea ritmului mitotic şi creşterea procentului de celule moarte*; 3) *modificări nucleare* (- retractarea şi condensarea nucleilor care sunt intens coloraţi, hipercromi, cu detaliile de structură dispărute, aspect numit *picnoză nucleară;* - *carioliza*, dizolvarea nucleului; - *cariorexis*, fragmentarea nucleului - fig. 6.1); 4) *modificări citoplasmatice*: scăderea bazofiliei citoplasmei; vacuolizarea citoplasmei; acumularea de pigmenţi de uzură şi a lipidelor, ca expresie a scindării moleculelor lipoproteice, etc.

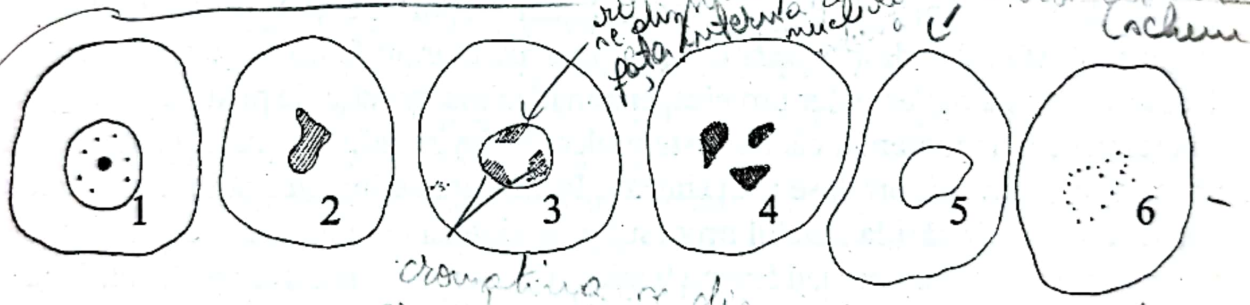


Fig. 6.1. ***Modificări necrobiotice ale nucleului:***
1-normal; 2-picnoza; 3-hipercromatoza corticală; 4-cariorexa; 5-cromatoliza; 6-carioliza.

În stadiul de agonie se pot observa: 1) modificări nucleare similare celulelor îmbătrânite; 2) modificări ale organitelor citoplasmatice cu eliberare de fosfolipide şi formarea de *„figuri mielinice"*; 3) modificări ale curenţilor citoplasmatici cu modificarea stării coloide a citoplasmei (fluidificare sau gelificare).

Există mai multe ipoteze şi *teorii privind îmbătrânirea celulară.* Acestea se pot grupa în două categorii. Unele teorii consideră senescenţa celulară ca o consecinţă a *acumulării defectelor genetice,* ca urmare a radiaţiilor, agenţilor mutageni sau radicalilor liberi din mediu. Aceşti factori pot acţiona fie asupra ADN-ului însuşi, fie asupra diferitelor etape din transcrierea şi traducerea informaţiei genetice. Consecinţa este pierderea treptată a capacităţii de sinteză a proteinelor şi producerea unor *„erori"*, adică sinteza unor proteine deficitare în funcţionalitatea lor. În cazul

Scanned with OKEN Scanner

teoriei invaziei virale a celulelor, senescenţa este o consecinţă a încorporării ADN-ului viral în genomul celulei. Dar prin astfel de teorii nu putem explica duratele variate de viaţă ale diferitelor celule: neuronii, celulele musculare, celulele ce secretă zimogen au o viaţă egală cu organismul însuşi, pe când alte celule se reînnoiesc, deci unele mor şi altele se nasc. Reînnoirea poate fi *lentă* (celulele tractului respirator, hepatocitele) sau *rapidă* (viaţă sub 30 zile au: celulele epiteliale din piele şi cornee, precursorii leucocitelor şi hematiilor).

Moartea se produce instantaneu, deci se pot observa numai modificări postmortem, caracterizate prin: 1) forma rotundă a celulelor cu retractarea pseudopodelor; 2) colorarea difuză a nucleului şi citoplasmei cu coloranţi vitali; 3) umflarea şi dispariţia mitocondriilor; 4) picnoză, cariorexis, carioliză nucleară. Aceste modificări se datorează eliberării enzimelor din lizozomii alteraţi, ca urmare a încetării circulaţiei sanguine de susţinere şi constituie semn cert al morţii organismului animal. Deoarece organismul animal este un complex format din mai multe sisteme, procesul de îmbătrânire al organismului este rezultatul îmbătrânirii fiecărui sistem în parte şi mai ales îmbătrânirea moleculelor, celulelor, ţesuturilor şi organelor. Fiecare moleculă organică îmbătrâneşte specific; la fel, fiecare celulă îmbătrâneşte specific printr-un mecanism diferit de acela al altei celule. În mod similar, procesul de îmbătrânire a ţesuturilor şi organelor este specific fiecăruia în parte.

Deoarece proteinele au rolul cel mai important în economia celulelor, majoritatea studiilor despre *îmbătrânirea moleculelor* au fost făcute pe proteine. Durata de viaţă a moleculelor proteice, enzimatice sau structurale poate fi determinată cu exactitate. În momentul când aceste molecule devin nefuncţionale, sunt înlocuite imediat cu altele noi, produse prin sinteză. Pe măsură ce înaintează în vârstă celula, pot surveni modificări la nivelul procesului de sinteză care determină apariţia unor molecule proteice cu proprietăţi fizico-chimice şi conformaţionale diferite de cele iniţiale. Aceste abateri de la normal sunt rezultate ale procesului de îmbătrânire a moleculelor.

Îmbătrânirea celulară este un proces cu semnificaţii structurale şi funcţionale, diferite pentru variate tipuri de celule existente în organism. Celulele cu *ritm rapid de diviziune* au un proces de îmbătrânire cu un mecanism diferit de producere faţă de *celulele nedivizibile.* În prezent este acceptată ideea că orice tip celular diferenţiat divizibil este capabil în cursul vieţii de un număr precis de diviziuni programate genetic. Pentru acest tip de celule, îmbătrânirea înseamnă *scăderea ritmului* sau chiar oprirea completă a procesului de diviziune. Pentru celulele indivizibile în cursul vieţii (neuronul, celulele musculare), îmbătrânirea înseamnă acumularea de macromolecule cu proprietăţi diferite de cele iniţiale sau acumularea de substanţe nedegradabile ca *lipofuscină, ceroizi etc.*

Îmbătrânirea tisulară şi a organelor este rezultatul îmbătrânirii moleculelor, a celulelor şi a modificării compoziţiei chimice a matricei intercelulare.

Scanned with OKEN Scanner

6.2.1. Moartea celulei

Studiul problematicii morţii se numeşte *tanatologie,* de la *Tanatos,* zeul morţii, la grecii antici.

Pe plan structural se poate vorbi de *tanatologia celulară,* care are ca obiect studiul cauzelor şi a mecanismelor morţii celulelor.

Recent s-a elaborat în diferite variante *teoria morţii programate a celulelor,* după care fiecare tip de celulă are înscris în programul genetic o anumită durată de viaţă, după care celula moare. La fel cum celulele au diferite caracteristici morfofuncţionale, la fel au şi o durată de supravieţuire caracteristică. Experienţele lui *Hayflick* (1986) sunt aduse în sprijinul acestei teorii. Autorul a cultivat fibroblaste din piele şi a constatat că cele provenite din ţesutul embrionar se divid exact de *50 ori*, apoi cultura moare. Dacă se iau fibroblaste de la persoane de diferite vârste, numărul diviziunilor scade treptat cu vârsta (cam cu 0,2 pe an de vârstă a donorului). Dacă culturile de celule sunt îngheţate chiar mai mulţi ani, la dezgheţare acestea se divid exact de atâtea ori ca şi celulele de aceeaşi generaţie neîngheţate. Se pare că efectul radiaţiilor se exclude fiindcă acest efect ar continua şi în stare îngheţată. De asemenea nu se pot explica rezultatele acestor experienţe prin acumularea de produşi toxici în mediul de cultură a celulelor. Explicaţia este aceea a *morţii programate*.

Menţinerea homeostaziei ţesuturilor şi a organelor se realizează prin echilibrul dinamic între celulele care mor şi celulele care iau naştere prin multiplicarea celulelor stem. Şi un proces şi altul sunt continui de la începutul organogenezei fetale şi până la încetarea vieţii organismului.

Ultimele decenii au adus contribuţii deosebite la o mai bună cunoaştere a morţii celulare, a morţii unor celule izolate sau a *tanatologiei celulare*, putându-se identifica în prezent trei tipuri : *moartea celulară programată, apoptoza* şi *necroza* sau *necrobioza* (PAUL, 1997). Asupra conţinutului acestor trei noţiuni mai există unele discuţii, mai ales în legătură cu delimitarea noţiunilor de *moarte celulară programată* şi de *apoptoză,* clarificarea aspectelor este aproape de forma finală.

A. *Moartea celulară programată (oncoza)* este moartea deliberată după un program genetic bine definit, un proces biologic intrinsec de autodistrugere celulară prin activarea unui program genetic specific. Este tipul de moarte celulară care intervine în morfogeneza diferitelor organe şi ţesuturi în cursul dezvoltării embriofetale, cunoscut fiind faptul că organismele animale sunt iniţial un conglomerat de celule, din care, pe măsură ce noul produs înaintează în vârstă, are loc moartea şi liza celulelor şi a ţesuturilor inutile. Rolul ei este mai vizibil în morfogeneza membrelor şi organizarea sistemului nervos central. În timpul sinaptogenezei mor mai mult de jumătate din neuroni. Moartea celulară programată intervine de asemenea în funcţionarea unor organe, ca involuţia uterină după gestaţie sau a glandei mamare după lactaţie.

B. Apoptoza este un tip de moarte celulară lentă, care consecutiv unor semnale intrinseci, prin mecanisme proprii, permite organismului să se elibereze de

Scanned with OKEN Scanner

anumite celule devenite indezirabile : celule lezate, celule în exces, celule senescente sau devenite străine etc. Apoptoza apare astfel ca un proces activ de apărare a organismului, în contrast cu moartea, care participă cu predominanţă la modelarea morfofiziologică a acestuia.

Apoptoza joacă de asemenea un rol deosebit în multiplicarea celulară. Este cunoscut faptul că ADN ca şi alte structuri moleculare este supus în permanenţă agresiunilor mediului intern şi extern. Unele leziuni ale acestuia sunt reparate prin mecanismele proprii şi ciclul celular îşi continuă evoluţia. Alte leziuni nu pot fi reparate şi celula îşi opreşte ciclul vital pentru o perioadă mai scurtă ori mai lungă sau ia drumul morţii lente, a *apoptozei*.

Un rol deosebit se acordă apoptozei în explicarea mecanismelor de acţiune a unor chimioterapice anticanceroase, capabile să inducă apoptoza celulelor tumorale. Din punct de vedere morfopatogenetic, în desfăşurarea apoptozei se pot contura patru stadii evolutive.

a) Stadiul molecular sau de preangajare.

Pregătirea celulei pentru moarte se demască prin apariţia unor modificări membranare şi citosolice capabile să recepteze semnalele intrinseci şi extrinseci ale organismului. Se schimbă conţinutul membranar în acizi sialici, mesageri secunzi, receptori şi constituienţi ca : adenozin 3'-5' monofosfatul ciclic (AMPc), inozitol trifosfatul (IP_3), Ca^{2+} citosolic.

Intervenţia acestor factori va avea ca efect : *modificarea permeabilităţii plasmalemei sau a membranei celulare, ştergerea microvilozităţilor şi a dispozitivelor joncţionale, pierderea contactului cu celulele vecine.*

b) Stadiul de contractare sau de condensare citoplasmatică şi nucleară.

Sporirea în citosol a AMPc ca şi a unor hormoni steroizi, induce activarea transcrierii de către celula în drum spre moarte a *„genelor de liză"* sau a *„genelor letale"*, mai ales a protooncogenelor *c-fos, c-myc* şi a antioncogenei P 53, care la rândul lor vor induce sinteza de macromolecule efectoare sau activatoare ale apoptozei. Sunt sintetizate *de novo* : *proteina de stres hsp 70 (heat shock protein 70), gamma glutamil transferaza, catepsina D* etc., care vor determina modificări profunde în structura celulelor. Acestea se desprind din angrenajul tisular, la nivelul plasmalemei se produc invaginaţii profunde, citosolul se condensează, eucromatina se concentrează la periferia membranei nucleare – *hipercromatoză marginală* -.Se remarcă faptul că mitocondriile şi ribozomii nu prezintă modificări şi celulele îşi conservă unele proprietăţi funcţionale : eliminarea coloranţilor vitali.

c) Stadiul de clivaj în corpi apoptotici.

Pe măsura înaintării spre moarte, în celulă se instalează şi modificări ale unor organite. Se constată astfel vacuolizarea cisternelor reticulului endoplasmic ca şi a unor saci golgieni. Sub acţiunea unor *endonucleaze calciu dependente* şi *zinc sensibile* ca şi a unei ADN-aze, cromatina este clivată în oligonucleozomi şi fragmente de 180-200 perechi de baze.

Scanned with OKEN Scanner

Invaginaţiile profunde ale plasmalemei şi formarea oligonucleozomilor conduc la parcelarea celulei şi în final clivarea acesteia în aşa-numiţii *„corpi apoptotici"*, fragmente celulare constituite din citosol, organite şi oligonucleozomi, bine delimitate printr-o plasmalemă.

d) Stadiul de fagocitoză sau/şi eliminare a corpilor apoptotici.

Persistenţa corpilor apoptotici în ţesuturi este de scurtă durată (circa 4 ore). În structura membranei corpilor apoptotici se produc modificări care alertează sistemul macrofagic monocitar. Menţionăm în această direcţie: demascarea *N-acetil glucozaminei* şi a *N-acetil galactozaminei* prin hidroliza reziduurilor sialilate ale lanţurilor oligozaharidice, creşterea cantităţii de *fosfatidil serină,* absorbţia la suprafaţa membranelor a unor glicoproteine de tipul *integrinelor* etc. Toţi aceşti compuşi membranari sunt recunoscuţi de către *lectinele* şi *receptorii macrofagelor* şi activându-le declanşează mecanismul de *fagocitoză.*

Un număr relativ de corpi apoptotici pot fi însă eliminaţi prin structurile canaliculare şi să fie astfel observaţi în lumenul intestinal sau în cel al tubilor uriniferi.

Diagnosticul de certitudine al apoptozei se realizează prin examenul electronomicroscopic.

C. *Necroza sau necrobioza, citonecroza, moartea celulară violentă.*

În opoziţie cu moartea celulară programată şi apoptoza, *necrobioza* se produce sub acţiunea factorilor tanatogeni cu citopatogenitate *intensă,* cu acţiune patogenă care depăşeşte posibilităţile adaptative ale celulei. Ea cuprinde de obicei un număr mai mare de celule.

După o primă fază de tumefiere celulară şi nu de contractare ca în apoptoză, celulele se dezagregă până la liza totală, generând o reacţie inflamatorie a teritoriilor învecinate. Organitele celulare sunt profund alterate. Lizozomii pun în libertate enzimele litice, nucleul după o primă fază de contractare *(picnoză)* se fragmentează *(cariorexă)* şi apoi se lizează *(carioliză).* Cariorexa nu poate fi asimilată clivajului din apoptoză. Ea este numai nucleară. Celula moare prin moartea nucleului şi secundar acesteia are loc liza celulară.

Citonecroza poate fi vizualizată histologic chiar şi când sunt afectate celule izolate, deoarece celulele îşi măresc volumul spre deosebire de apoptoză în care şi-l micşorează.

7. MATRICEA EXTRACELULARĂ

Matricea extracelulară sau intercelulară constituie mediul interstiţial în care îşi desfăşoară activitatea diferitele tipuri de celule. Toate celulele organismelor pluricelulare ce formează ţesuturi se află în contact cu o reţea intricată de macromolecule, numită *matricea extracelulară,* şi care ocupă spaţiul interstiţial dintre celule, continuându-se cu *glicocalixul* lor. Deci se află în relaţii de contiguitate şi de continuitate moleculară cu glicolema.

Scanned with OKEN Scanner

Matricea extracelulară îndeplineşte roluri multiple :
a) stabilizează structura fizică a ţesuturilor ; b) rol de lubrefiere, amortizarea şocurilor mecanice şi asigurarea elasticităţii ţesuturilor şi organelor ; c) rol în adezivitatea celulară (fiind un *„clei universal celular”)* ; d) influenţează forma celulei, proliferarea, migrarea şi dezvoltarea celulelor în evoluţia embrionului ; e) rol metabolic.

În concluzie, matricea extracelulară este o structură dinamică, activă, în interrelaţie cu celulele şi nu are numai rolul mecanic, inert, atribuit uneori de histologia clasică.

La microscopul optic, în matricea extracelulară pot fi observate trei componente : *membrana bazală (lamina bazală), fibre intercelulare* (de colagen, elastice şi de reticulină) şi *substanţa fundamentală a matricei,* bogat coloidală.

7.1. Membrana bazală

Toate ţesuturile epiteliale prezintă pe suprafaţa lor bazală, în contact cu ţesutul conjunctiv subiacent, o structură lamelară, fină, a matricei extracelulare, denumită *membrana bazală (lamina bazală).* Termenul de membrană bazală a fost atribuit în histologia clasică, structurilor alcătuite dintr-o lamă fină polizaharidică, ce îndeplinea rolul de ciment la baza epiteliilor şi care se asocia cu o tramă reticulară fină, în contact cu ţesutul conjunctiv. Lama polizaharidică a fost individualizată selectiv prin impregnări cu săruri de argint sau prin reacţia PAS. Prin metoda PAS se colorează în roşu purpuriu, cu reactivul Schiff, majoritatea polizaharidelor care formează grupări aldehidice libere, după oxidarea prealabilă cu acid periodic. Majoritatea epiteliilor prezintă membrane bazale de formă lamelară, a căror grosime este de ordinul *zecimilor de µm,* deci aproape de limita puterii de rezoluţie a microscopului optic, utilizat curent în laboratoare. Aşa este cazul membranei bazale din epiderm, epiteliul respirator, din glandele exocrine etc. Membranele bazale groase de *câţiva µm* se evidenţiază la nivelul epiteliilor anterior şi posterior ale corneii precum şi în epiteliul cristalinian. Pe de altă parte, existenţa membranei bazale în epiteliul vezicii urinare a fost multă vreme pusă la îndoială în histologia clasică, deoarece grosimea ei este sub puterea de rezoluţie a microscopului optic. Membrana bazală separă de obicei ţesuturile epiteliale de acoperire sau glandulare de ţesutul conjunctiv subiacent. În alte cazuri, aşa cum este cazul glomerulului renal (foiţa viscerală a capsulei Bowmann) sau al epiteliului alveolar, membrana bazală este singura structură care se interpune între epiteliul respectiv şi endoteliul capilarelor sanguine, având funcţia de filtru selectiv. În ultimul timp se acumulează dovezi din ce în ce mai numeroase, că membranele bazale sunt mai mult decât suport structural şi filtru. Ele sunt capabile de a induce diferenţierea, de a influenţa metabolismul celular, de a induce organizarea proteinelor din membrana plasmatică adiacentă şi de a constitui o cale specifică pentru migrarea celulelor. Pentru aprofundarea funcţiilor sale complexe este necesară elucidarea organizării ultrastructurale şi moleculare a membranei bazale.

Scanned with OKEN Scanner

La ME, membrana bazală apare ca o structură matriceală fină, prezentă în toate tipurile de ţesuturi epiteliale, pe faţa lor internă separându-le de ţesutul conjunctiv subiacent. Pe imaginile electronomicroscopice de rutină, membranele bazale apar alcătuite dintr-un strat granular fin în care este cuprinsă o ţesătură delicată de fibre foarte fine. În mod obişnuit, la microscopul electronic (fig. 7.1) pot fi deosebite trei straturi lamelare, suprapuse membranelor bazale: 1) *lamina lucida*, adiacentă celulelor epiteliale, în grosime de 10 nm, care în preparatele de rutină apare omogenă şi traversată de rare filamente fine; 2) *lamina densa*, în grosime de 20-30 nm, care în imaginile obişnuite apare constituită din filamente fine, abundente, incluse într-o matrice amorfă densă; 3) *lamina reticularis*, care marchează tranziţia la matricea ţesutului conjunctiv.

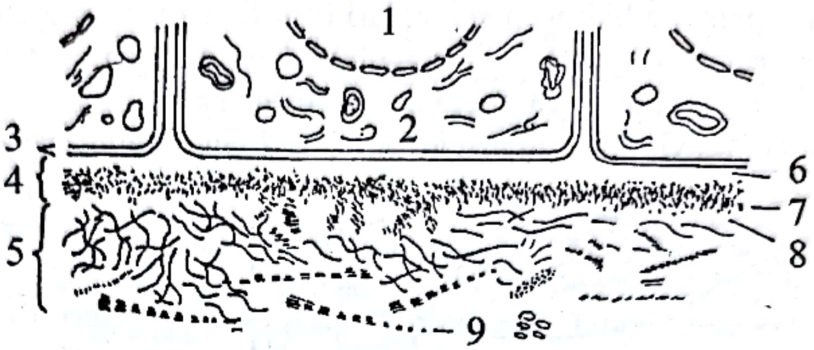


Fig. 7.1. ***Schema ultrastructurii membranei bazale:*** 1.-nucleu; 2.-citoplasmă; 3.-plasmalemă; 4.-membrană bazală, 5.-fibre conjunctive; 6.-lamina lucida; 7.-lamina densa; 8.-lamina reticularis; 9.-colagen.

Pe faţa citoplasmatică, membranele plasmatice ale celulelor epiteliale prezintă dispozitive joncţionale de adezivitate speciale, denumite *hemidesmozomi*.

Membrana bazală este produsă de celulele care se sprijină pe ea; compoziţia chimică variază după ţesut, dar în general, cuprinde *colagenul de tip IV şi V*; *proteoglicani*, *fibronectină* şi o proteină cu greutate mare, denumită *laminină*.

Funcţiile membranei bazale sunt multiple:

a) în epitelii este o barieră, oprind trecerea fibroblastelor, dar permite trecerea macrofagelor şi limfocitelor;

b) rol în regenerarea ţesuturilor epiteliale după leziuni, ea servind ca un suport pentru migrarea celulelor în cursul regenerării;

c) filtru selectiv pentru substanţele din lichidul interstiţial care scaldă celulele, pentru a asigura metabolismul acestora;

d) în glomerulii renali acţionează ca un filtru semipermeabil, reglând trecerea macromoleculelor din sânge în urină.

7.2. Fibrele intercelulare

Acestea sunt: *fibrele de colagen*, *fibrele elastice*, cu varianta lor *fibrele oxitalanice* şi *fibrele de reticulină*.

Scanned with OKEN Scanner

Fibrele de colagen sunt alcătuite din proteine fibroase (*scleroproteine*), reprezentate prin moleculele de colagen. Acesta reprezintă aproximativ 25% din totalul proteinelor din organism. Molecula de colagen este lungă, de aproximativ 280-300 nm şi are un diametru de 1,5 nm (fig. 7.2). Ea este formată din trei lanţuri polipeptidice, numite *lanţuri alfa*, răsucite helicoidal, unul în jurul celuilalt ca firele într-o frânghie. Configuraţia de triplu helix este stabilizată în molecula de colagen prin punţi de hidrogen şi legături bisulfidice realizate între cele trei lanţuri. Două dintre lanţurile alfa dintr-o moleculă de colagen sunt asemănătoare şi denumite *lanţuri alfa*$_1$. Acestea diferă prin frecvenţa aminoacizilor de al treilea lanţ, denumit *lanţ alfa*$_2$. Genetic, au fost identificate 7 lanţuri alfa, fiecare cu aproximativ 1050 de reziduuri de aminoacizi. Deşi se pot forma mai mult de *100 tipuri diferite de colagen* prin combinaţia celor 7 lanţuri alfa, numai câteva dintre ele sunt mai bine cunoscute şi conturate funcţional. Acestea au primit denumirea de *colagen tip I, II, III, IV şi V.*

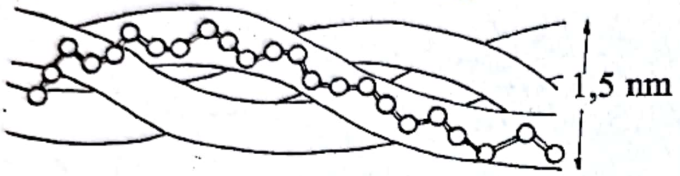


Fig. 7.2. ***Molecula de colagen cu cele trei lanţuri polipeptidice dispuse helicoidal***

Colagenul tip I, II şi III polimerizează sub formă de *fibrile de colagen* şi organizează colagenul fibrilar care intră în alcătuirea fibrelor de colagen şi a celor de reticulină. Colagenul tip IV şi V nu formează fibrile şi poartă denumirea de colagen afibrilar, ce intră în structura *membranelor bazale.*

Moleculele de colagen realizează în mediul extracelular *microfibrile (protofibrile)* cu diametrul de *10-20 nm,* observabile la nivel ultrastructural. Ele se caracterizeaă printr-o periodicitate de *64 nm,* fiecare microfibrilă de colagen prezentând o alternanţă regulată de benzi clare şi întunecate. Acestea apar datorită aranjării moleculelor de colagen (*tropocolagen*) în fibrile care sunt paralele între ele şi în scară, determinând astfel de-a lungul fibrilei, *zone lacunare (gap)* de *35 nm,* ce alternează regulat cu *zone de suprapunere*. Zonele sau benzile lacunare apar negre la microscopul electronic, deoarece au mai mulţi radicali liberi, care leagă mai uşor colorantul negativ. Moleculele adiacente sunt distanţate la *64 nm,* iar între moleculele succesive dintr-un rând, se află un *gap* de *35 nm.* Mărimea *gap-ului* este astfel aranjată, încât se repetă după *5 molecule de colagen* (fig. 7.3). Microfibrilele se grupează, formând *fibrilele de colagen, groase de 0,2-0,5 µm* (fig. 7.4). Legarea microfibrilelor se realizează prin interacţiuni necovalente, apoi fibrila formată va fi stabilizată prin legături transversale covalente. Acestea se dezvoltă extracelular şi fac ca fibrila să devină mai tensionată şi mai puţin expusă enzimelor proteolitice.

Colagenul se sintetizează în fibroblast
pag 173 (figura)
pag 171 (figura)

Scanned with OKEN Scanner

Fibrilele de colagen se asociază în număr diferit şi realizează *fibrele de colagen*, cu grosimi diferite între *1 şi 20 μm*. Fibrele sunt unite între ele prin carbohidraţi, cu hexoze în principal, care dau reacţia PAS-pozitivă fibrelor de colagen.

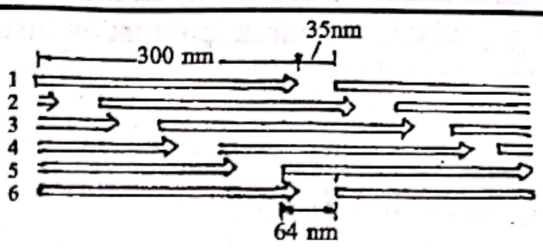


Fig. 7.3. ***Modelul de aranjare a microfibrilelor în fibrele de colagen***

Fibrele de colagen sunt lungi, sinuoase, cilindrice, cu capete care se pierd în matricea extracelulară. Ele sunt acidofile, se colorează roz cu eozina, albastru în coloraţia tricrom Mallory şi verde în coloraţia tricrom Masson. Fibrele de colagen nu se anastomozează, dar pot alcătui benzi în unele ţesuturi conjunctive. Ele poartă şi denumirea de *fibre albe*, sunt foarte rezistente şi apar birefringente la microscopul de polarizare. Fibrele de colagen pot fi degradate sub acţiunea *colagenazei* care clivează molecula de tropocolagen, respectiv cele trei lanţuri alfa, la un anumit nivel al acestora şi împart astfel triplul helix în două fragmente inegale, unul reprezentând 75 % din moleculă, iar celălalt 25 %. Mai rar, colagenazele pot separa unele de altele cele trei lanţuri ale moleculei de colagen.

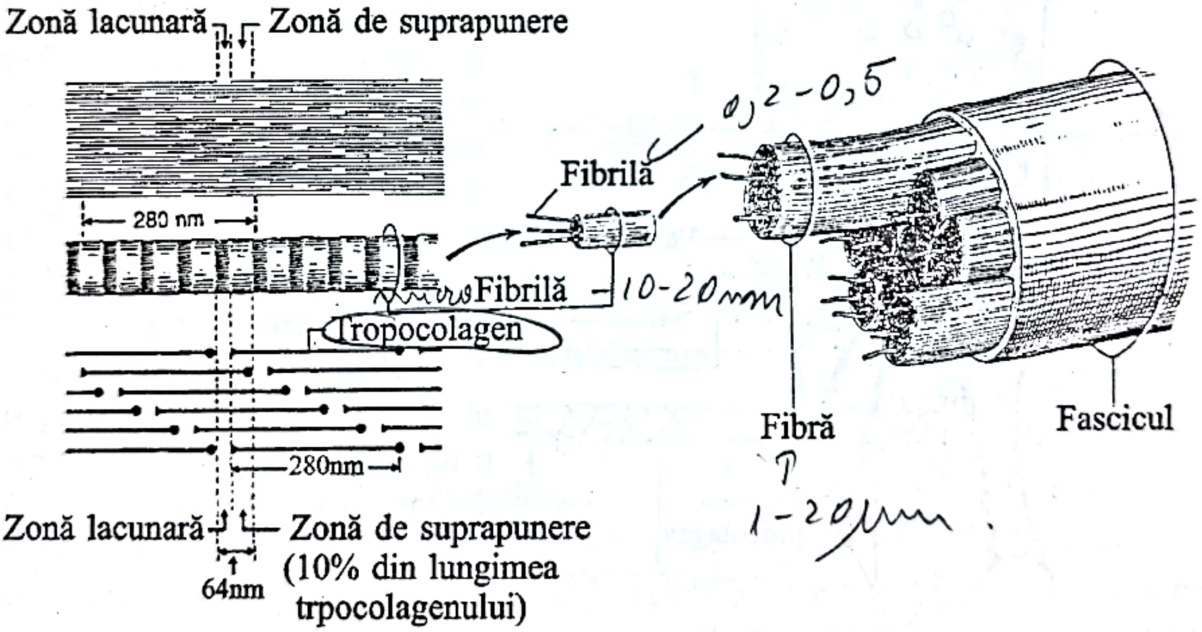


Fig. 7.4. ***Schema aranjării moleculelor de colagen (tropocolagen), fibrilelor, fibrelor şi fasciculelor de colagen*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Fibrilogeneza. În general, în ţesuturile conjunctive colagenul este sintetizat şi secretat de către *fibroblaste*, în cartilaj de către *condroblaste*, iar în ţesutul osos de către *osteoblaste*. Formarea lui are loc în două etape: a) *etapa intracelulară* presupune transcripţia, traducerea, hidroxilarea reziduurilor specifice de prolină şi lizină, precum şi glicozilarea reziduurilor de hidroxilizin, eliberarea lanţurilor

Colagenul prin fierbere stă gelatina

Scanned with OKEN Scanner

polipeptidice, formarea legăturilor bisulfidice, asamblarea lanţurilor polipeptidice cu formarea de triplu helix şi secreţie (exocitarea în mediul extracelular) ; b) *etapa extracelulară* în cursul căreia, în matricea extracelulară *procolagenul* este convertit în *colagen (tropocolagen)* ; urmează polimerizarea moleculelor şi realizarea fibrelor de colagen (fig. 7.5 şi 7.6).

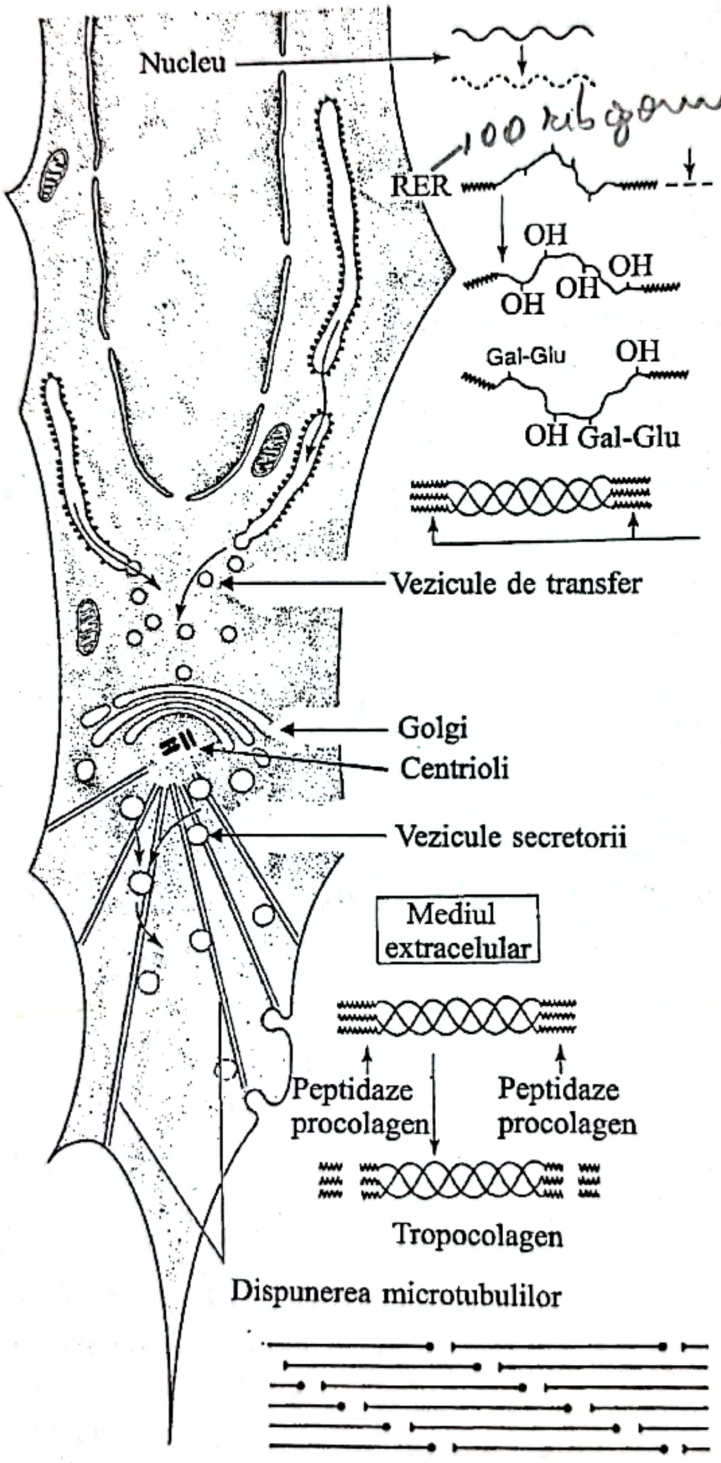


Fig. 7.5. ***Sinteza colagenului în fibroblast*** *(Junquiera şi colab., 1998)*

Fibrele elastice sau fibrele galbene, cu diametrul de aproximativ 1 μm, sunt mai subţiri decât cele de colagen. Ele se ramifică şi se anastomozează realizând reţele neregulate. Se colorează electiv cu orceină în roşu-brun întunecat, cu rezorcin-fuxină (Weigert) în roşu-aprins, cu aldehid-fuxină (Gömöri) în negru; în negru-albastru cu hematoxilină ferică, coloraţia Verhoeff; cu hematoxilină-eozină se colorează slab şi inconstant. Fibrele elastice sunt rezistente, au proprietatea de a fi extensibile (100-120 %), deci de a reveni la lungimea iniţială după ce tracţiunea asupra lor a încetat. Fibrele elastice se găsesc în special în ţesutul conjunctiv lax, în pereţii vaselor sanguine; media aortei este structurată din fibre elastice organizate în lamine elastice de tip fenestrat, în pulmon, în piele. La vârstă înaintată ele se răresc, ceea ce determină apariţia disfuncţiilor organelor respective. Fibrele elastice sunt monofibrilare, cu o compoziţie aproximativ similară de ami-noacizi ca şi fibrele de colagen. Observate la microscopul electronic, fibrele elastice prezintă în centru o *masă amorfă*, astructurată, ce conţine *elastina*, înconjurată de o teacă de microfibrile cu un diametru de 10 nm, dispuse în benzi şi având direcţia paralelă cu axul lung al fibrei. Aceste microfibrile sunt formate din glicoproteine care apar primele în cursul formării fibrei, de către fibroblast şi au rolul de a orienta depunerea elastinei în regiunea centrală amorfă. Componenta de bază a microfibrilelor este *fibrilina*, care este esenţială pentru integritatea lor.

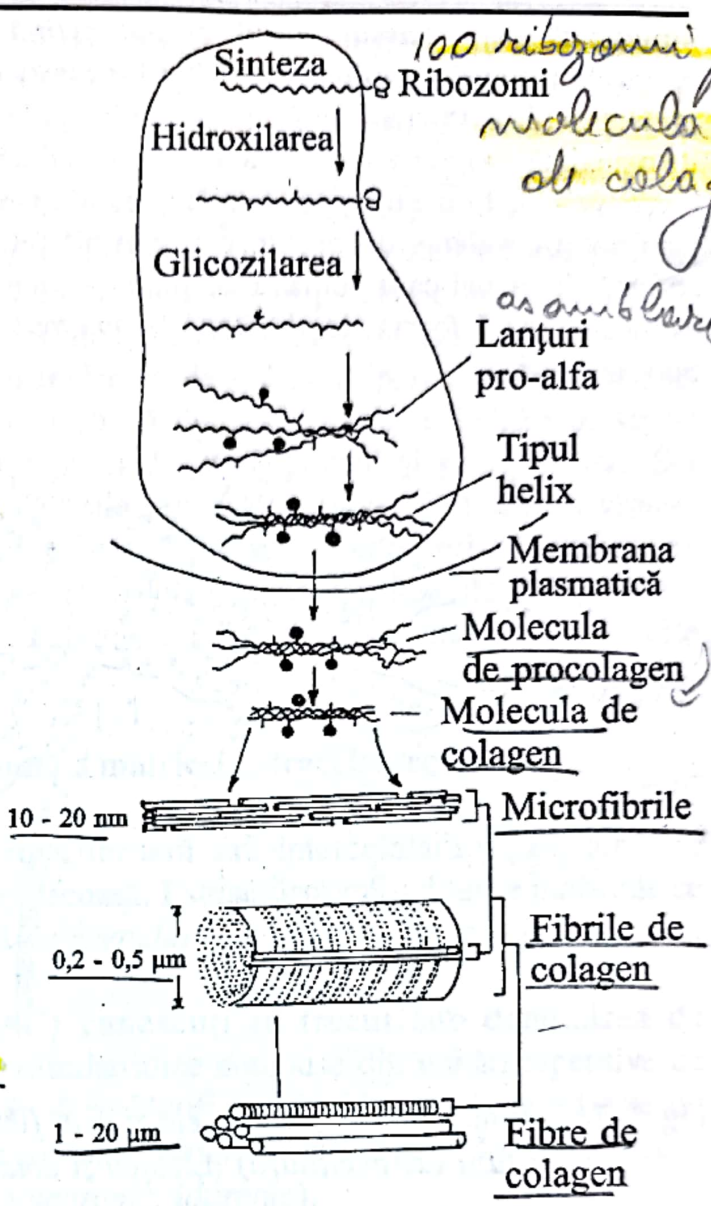


Fig. 7.6. ***Etapele principale ale fibrilogenezei (intra- şi extracelular)***

Elastina este sintetizată de către fibroblastele din piele şi tendoane sau de către fibrele musculare netede în pereţii vaselor mari. Elastina este secretată şi

Fibrele elastice → în pavilionul urechii?
↳ nu se refac!

sintetizată ca precursor, numit *tropoelastină (proelastină)*, apoi în matricea extracelulară are loc polimerizarea în fibre elastice (fig. 7.7). Elastina este rezistentă la fierbere, la extracţia cu acizi şi baze diluate, la acţiunea tripsinei. Este hidrolizată de o enzimă – *elastaza* – secretată în principal de pancreas. Moleculele de elastină, sinuoase şi de forme diferite, sunt legate între ele prin punţi necovalente slabe, ca şi prin punţi covalente distanţate, care permit reţelei elastice să se întindă şi să se strângă, întocmai ca o gumă. Elastina poate servi drept matrice pentru calcifiere, explicând astfel formarea *plăcilor ateromatoase* în vasele sanguine şi calcifierea unor ţesuturi.

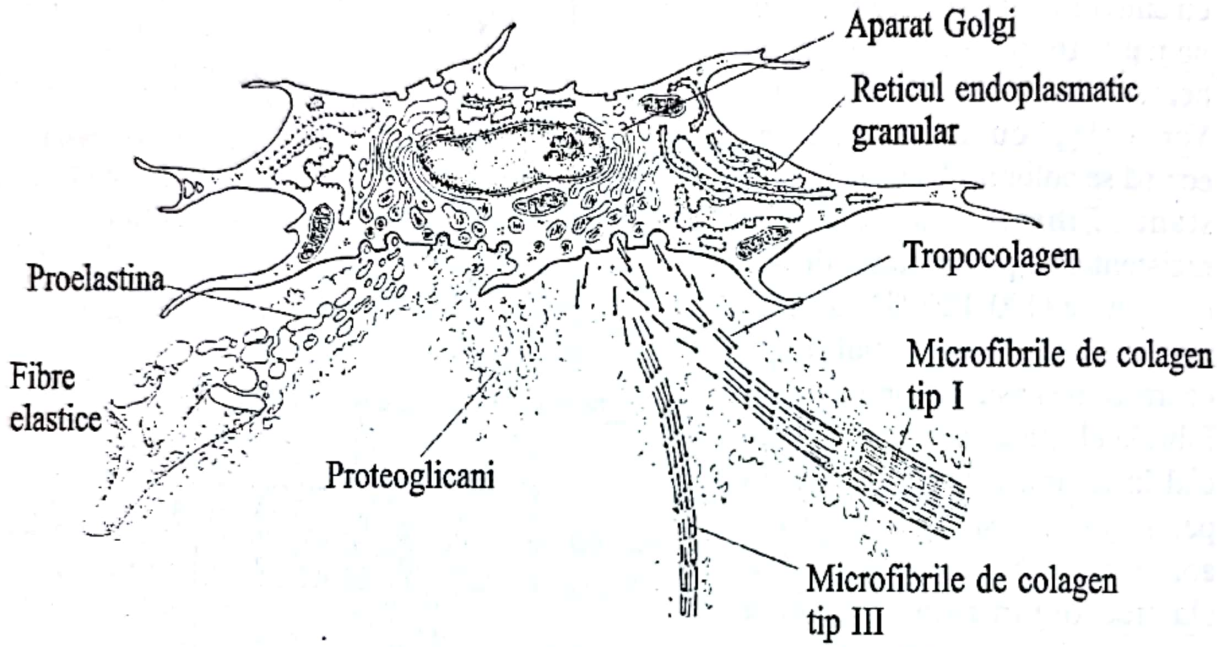


Fig. 7.7. ***Schema sintezei fibrelor elastice în fibroblast (etapa intracitoplasmatică şi faza extracelulară) (Liebich şi colab., 1999)***

Fibrele oxitalanice sunt considerate o varietate a fibrelor elastice, foarte rezistente la acizi. Ele se găsesc în număr mare în ligamentele dentare, unde se dispun printre fibrele de colagen şi de reticulină. Fibrele oxitalanice sunt mai groase şi mai rigide decât fibrele elastice. Ele se pot colora cu coloranţii fibrei elastice (orceină, fuxină), numai după prealabila lor tratare cu acid peracetic, acid permanganic sau acid performic. Fibrele oxitalanice rezistă la digestia cu elastază, dar după tratarea lor cu acid peracetic sunt imediat degradate.

Fibrele de reticulină sunt foarte subţiri, cu diametrul între 0,5-2 μm. Nu sunt grupate în fascicule, prezintă ramificaţii şi formează frecvent reţele. Pot fi mai bine observate în contrast de fază şi la microscopul de polarizaţie după colorare cu roşu Sirius. Se colorează pe preparatele fixate aproximativ la fel ca cele de colagen (cu albastru de anilină). În plus, ele prezintă o argirofilie pronunţată *(fibre argirofile)*, ceea ce permite buna evidenţiere cu săruri de argint. Sunt PAS-pozitive, datorită

Scanned with OKEN Scanner

conţinutului mai mare în glicoproteine caracteristice acestor fibre. Conţin *hexoze* în procent de 6-12% faţă de 1% - în fibrele de colagen. Fibrele de reticulină se evidenţiază în special în ţesuturile hematopoetice şi limfopoetice (măduva osoasă hematogenă, organele limfoide), în jurul capilarelor, în membranele bazale, în glandele endocrine, în ficat, rinichi. Diametrul redus şi dispunerea în reţea laxă şi flexibilă a fibrelor de reticulină, permite modificări de formă şi volum a unor organe, precum ficatul, splina şi arterele. În cursul embriogenezei, în procesele inflamaţiei şi de cicatrizare, fibrele de reticulină pot fi înlocuite cu fibre de colagen.

Fibrele de reticulină conţin molecule de colagen tip III. La microscopul electronic, fibra de reticulină apare formată din *fibrile* groase de *45 nm,* strâns împachetate şi legate între ele prin punţi de proteoglicani şi glicoproteine. S-a considerat că acestea ar reprezenta fibrele imature de colagen. În ultima vreme, fibrele de reticulină sunt privite ca entităţi separate, cu caracteristici precise de structură şi funcţie. Ele se formează, ca şi celelalte două tipuri de fibre conjunctive, în fibroblaste (sinteza de molecule de colagen tip III, ce vor fi exocitate şi polimerizate extracelular).

7.3. Substanţa fundamentală a matricei extracelulare

Este numită şi substanţă interfibrilară sau intercelulară, apare amorfă, incoloră, transparentă, omogenă şi vâscoasă. Este alcătuită din diferite molecule ce conţin *proteinele fibroase* de tipul *colagenului* şi *elastinei, glicozaminoglicani* şi *glicoproteine structurale.*

Glicozaminoglicanii (GAG) cunoscuţi în trecut sub denumirea de *mucopolizaharide* sunt complexe polizaharidice compuse din unităţi repetitive de *dizaharide,* în care unul din cele două reziduuri de glucid care se repetă este un *aminoglucid,* respectiv *N-acetil-glucozamina* sau *N-acetil-galactozamina.* Cel de al doilea glucid este un acid uronic (*glucuronic, iduronic*).

Din grupul glicozaminoglicanilor fac parte: *acidul hialuronic* (singurul nesulfatat), *condroitin-sulfaţii, heparan-sulfaţii, keratan-sulfaţii* şi *heparina.* Cu excepţia acidului hialuronic, toţi ceilalţi glicozaminoglicani sunt legaţi covalent de o proteină cu care formează molecule de *proteoglicani* (PG). Circa *95%* din molecula de proteoglicani este constituită din *glicozaminoglicani,* iar *5%* din *proteine.*

Proteoglicanii, datorită componentei polizaharidice formează polianioni foarte mari care leagă apa şi cationii (în special Na^+), alcătuind aşa-numita substanţă fundamentală. Proteoglicanii sunt foarte heterogeni în ceea ce priveşte conţinutul proteic, mărimea moleculei şi numărul de glicozaminoglicani din moleculă, dar cu o repetare regulată de dizaharide similare.

Datorită organizării în gel hidratat, lanţul de GAG difuzează repede între celule, facilitând migrarea celulelor şi formarea la nivelul acestora a numeroase prelungiri celulare. Proteoglicanii formează complexe mari moleculare. Aşa cum se observă în fig. 7.8 se crede că ei se leagă covalent de o parte şi de alta a unui ax

Scanned with OKEN Scanner

polipeptidic denumit *„miez proteic"*. Numeroase asemenea subunităţi (în cartilaj circa 140 pe un interval de 30 nm) se leagă necovalent pe un lung filament de *acid hialuronic (AH)* prin intermediul unor mici *„linkeri"* proteici. Întregul complex de PG ajunge la o masă de ordinul 10^5 Kdal şi o lungime de ordinul micrometrilor.

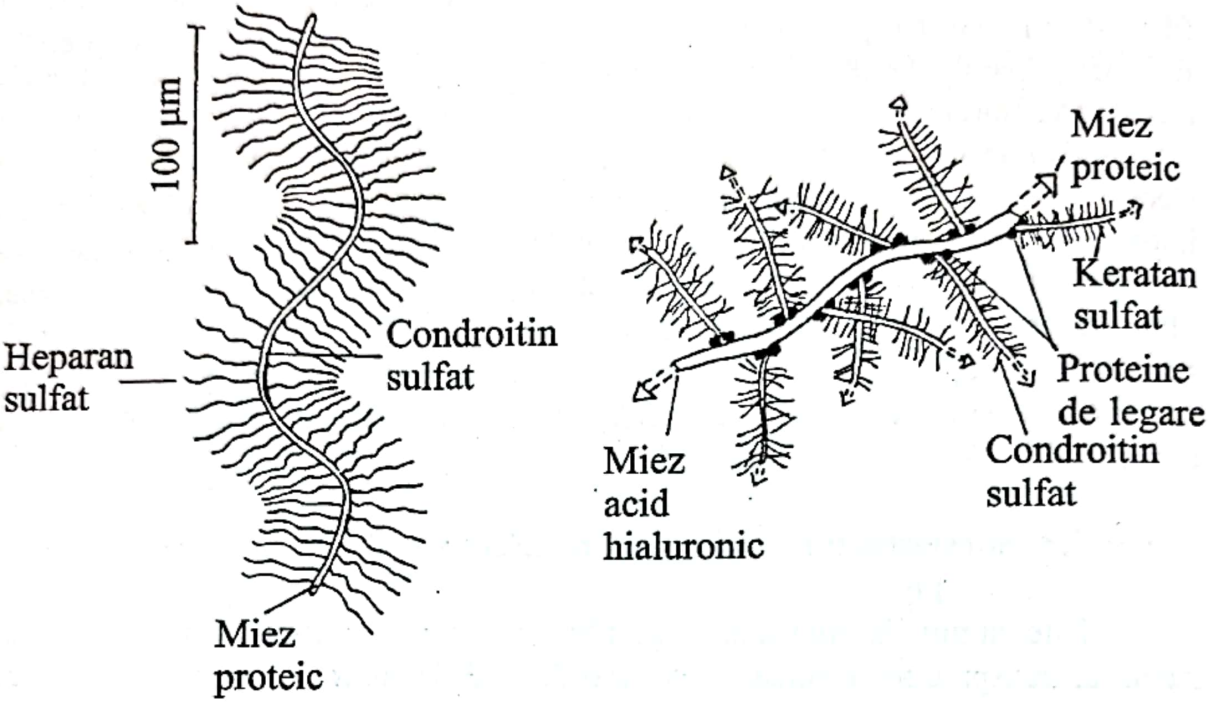


Fig. 7.8. ***Proteoglicani monomeri şi agregat de proteoglicani***

Majoritatea proteoglicanilor conţin miezul proteic asociat cu dermatan-sulfatul, condroitin-sulfatul sau heparan-sulfatul (fig. 7.9). Uneori proteoglicanii pot fi legaţi unii de ceilalţi sau de alte macromolecule locale, cum ar fi colagenul tip II, elastina şi fibronectina.

Proteoglicanii pot fi evidenţiaţi la microscopul electronic cu ajutorul roşului de ruteniu care se leagă selectiv de polimerii acizi şi devin electrono-denşi după combinarea cu O_sO_4. Prin această metodă a fost identificată prezenţa PG în *glicocalix* (la polul apical al suprafeţei celulelor), în *membranele bazale* (la polul bazal al celulelor polarizate funcţional şi în jurul celorlalte celule) şi în *substanţa fundamentală a matricei*. Astfel se prezintă ca *granule mari* (de 20-50 nm) în matricea extracelulară, sub formă de *granule mici* (10-20 nm) în membranele bazale şi de *filamente subţiri* (3-5 nm) care leagă materialul din glicocalix, granulele din membranele bazale şi cele din substanţa fundamentală.

Cu toate că există numeroase neclarităţi asupra rolului PG, sunt indici că ei sunt implicaţi în *adezivitatea celulară* faţă de matricea extracelulară, că ei conferă *vâsco-elasticitate* şi *rezistenţă la presiune* populaţiilor celulare, că reglează *deplasarea*

Scanned with OKEN Scanner

moleculelor (mari şi mici) prin spaţiul interstiţial, că *modulează homeostazia tisulară* şi că *interacţionează cu lipoproteinele sanguine.*

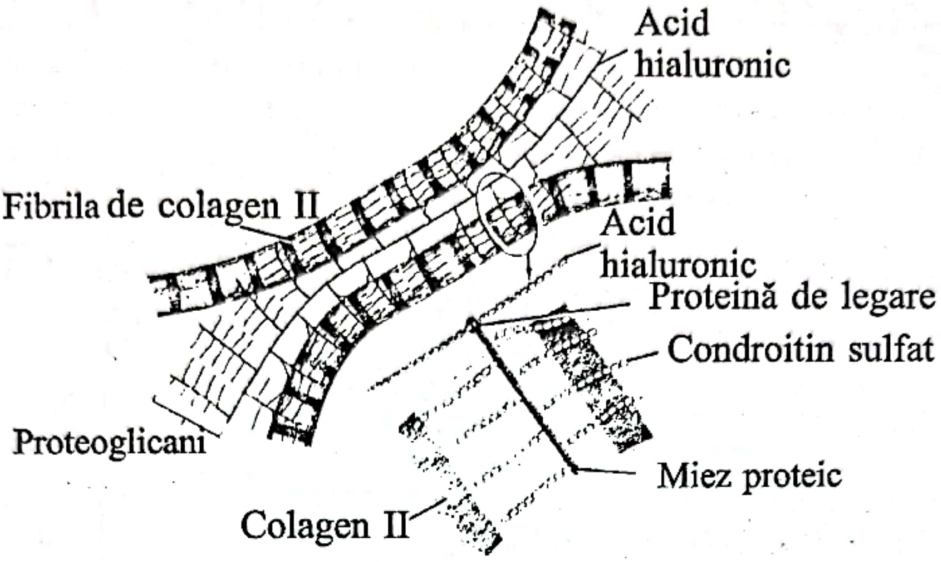


Fig. 7.9. ***Schema legării acidului hialuronic şi a condroitin-sulfaţilor de colagenul de tip II în cartilaj*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

GAG şi *PG* se formează în fibroblaste prin mecanismul de sinteză comun glicoproteinelor. Componenta glicoproteică se sintetizează la nivelul ribozomilor reticulului endoplasmic rugos şi glicozilarea începe în acelaşi organit (RER) fiind completă în structurile golgiene, unde se desfăşoară şi procesul lor de sulfatare. Ei sunt apoi eliminaţi în matricea extracelulară. Degradarea lor după o funcţionare de 2-4 zile pentru acidul hialuronic sau de 7-10 zile pentru proteoglicani, se realizează de către macrofage prin sistemul lor de hidrolaze acide lizozomale.

Glicoproteinele structurale joacă un rol important în funcţionarea matricei extracelulare, cum ar fi relaţiile intercelulare şi adezivitatea celulelor. Până în prezent sunt cunoscute următoarele glicoproteine : *fibronectina* (se găseşte în matricea tuturor tipurilor de ţesuturi conjunctive), *condronectina* (în matricea cartilaginoasă), *laminina* (numai în membranele bazale).

Fibronectina este o proteină compusă din două subunităţi, produsă de fibroblaste şi de celulele endoteliale, mai puţin de unele celule epiteliale. Fibronectina mediază adeziunea celulelor de colagen (fig. 7.10) sau la alte componente ale matricei extracelulare, acţiune la care pot contribui şi alte molecule locale ca laminina, condronectina, şi altele.

Fibronectina este o glicoproteină compusă din două subunităţi legate prin punţi bisulfidice, cu greutatea medie de 220000 daltoni. În matricea extracelulară se găseşte sub formă de agregate. Fibronectinele pot interacţiona cu alte molecule ca: gelatina, colagenul I-V, colagenul denaturat, fibrina, fibrinogenul, heparina, proteoglicanii, diferite celule, hematii, actina, ADN, acidul hialuronic, gangliozidele, unele componente ale complementului etc.

Scanned with OKEN Scanner

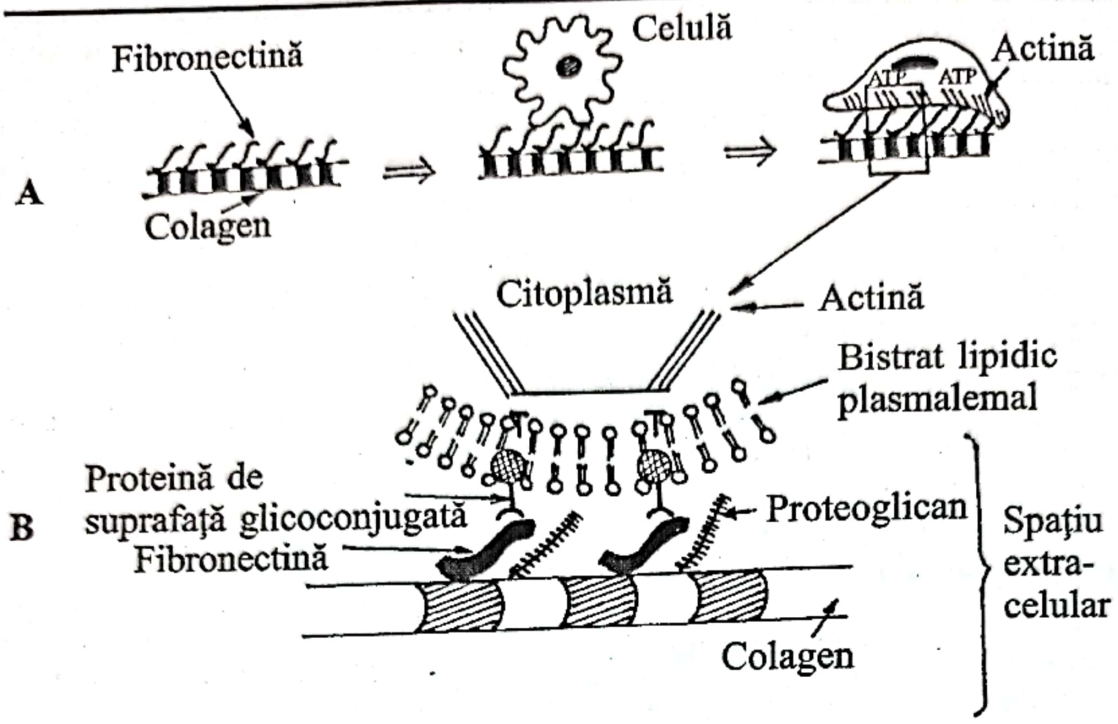


Fig. 7.10. ***Adezivitatea suprafeţei celulare la colagenul interstiţial este mediată de fibronectină şi proteoglicani; B.-detaliu mărit din A***

De asemenea fibronectinele au rol important în migrarea celulelor în cursul diferenţierii embrionare, în fagocitoză, în hemostază, precum şi în transformarea oncogenică (lipsa lor poate constitui unul din factorii favorizanţi ai malignizării). În anumite situaţii fibronectinele din matricea extracelulară pot înlocui pentru fibroblaste *factorii de competenţă* necesari sintezei de ADN şi replicării celulelor, cum ar fi: factorul de creştere eliberat de fibroblaste, de plachetele sanguine sau *factorul de creştere epidermic*. Aceşti factori acţionează în faza G_1 timpurie, activitatea lor este continuată de *factorii de progresie* ca insulina, insulin-like sau de factori de creştere derivaţi din macrofage, etc., care intervin în faza G_1 târzie, semnalând celulei să-şi continue ciclul celular şi să se dividă.

Fibronectinele se găsesc şi în umorile organismului, cu concentraţia cea mai mare în plasma sanguină, în proporţie de aproximativ 300 micrograme/ml, fiind formate în principal de hepatocite dar şi de celulele endoteliale sau de macrofage. În celelalte umori ale organismului ele se găsesc în concentraţii foarte mici.

În matricea extracelulară din aproape toate ţesuturile conjunctive s-a identificat o glicoproteină numită *glicoproteina 115* (necolagenă), cu greutatea moleculară de aproximativ 115000 daltoni. Ea este prezentă în cantitate mai mare în vasele sanguine, în fibrele musculare netede, în unele membrane bazale, având o funcţie asemănătoare fibronectinei şi lamininei.

Scanned with OKEN Scanner

Condronectina este elaborată de condroblaste, fiind o glicoproteină ce mediază ataşarea condrocitelor de colagenul de tip II din cartilaj.

Laminina este o glicoproteină cu greutate moleculară mare (formată dintr-o subunitate de 220000 şi alta de 440000 daltoni). Alături de colagen de tipul IV şi V, proteoglicanii şi fibronectina intră în structura *membranelor bazale (lamine bazale).* Laminina este localizată în *lamina lucida,* în apropierea celulelor epiteliale care se sprijină pe membrana bazală. Ea mediază ataşarea celulelor epiteliale de colagenul de tip IV al membranelor bazale. Laminina posedă locuri specifice de ataşare, fiind structurată din trei *lanţuri alfa* (A) şi un lanţ beta (B).

În matricea conjunctivă se găseşte în cantitate mică şi *lichidul tisular,* care este asemănător plasmei sanguine. Apa, împreună cu molecule mici, inclusiv proteine cu greutate moleculară mică şi împreună cu diferiţi ioni, trece în ţesutul conjunctiv la capătul terminal al *capilarului,* unde *presiunea hidrostatică* a sângelui este mai mare decât *presiunea osmotic-coloidală* a plasmei sanguine.

Presiunea hidrostatică, consecinţă a acţiunii de pompare a sângelui de către cord, scade treptat în capilar către capătul lui venos. Paralel creşte presiunea osmotic-coloidală a plasmei sanguine (determinată de serumproteine) care permite apei din ţesuturi să se reîntoarcă în capilare. Cantitatea de apă ce se reîntoarce este mai mică decât cea care trece în ţesuturi. Prin circulaţia limfatică apa din ţesut ajunge din nou în sângele circulant. În unele condiţii patologice (obstrucţie venoasă, hipoproteinemie, lezări ale endoteliului capilar), apa se acumulează în cantitate mare în ţesuturile conjunctive, realizând *edemul.* Pe lângă molecule organice, în lichidul tisular se găsesc şi ioni, reprezentaţi în special prin sodiu şi clor, mai puţin prin magneziu, calciu şi potasiu.

Scanned with OKEN Scanner

EMBRIOLOGIE GENERALĂ

Embriologia este ştiinţa dezvoltării ontogenetice a organismelor, studiul factorilor cauzali ai dezvoltării, cheia organizării corpului animal. În înţelesul strict al cuvântului, embriologia cuprinde partea intrauterină a ontogenezei *(onton* = individ; *genesis* = creaţie), în cazul mamiferelor, iar la păsări în interiorul oului, până la *ecloziune*. Ontogeneza reprezintă istoria dezvoltării individuale, ea cuprinde în afara *perioadei embrionare* şi *dezvoltarea* postnatală a individului, până la moarte. Din asimilarea reciprocă a celor doi gameţi (*spermatozoid* şi *ovul*) rezultă o nouă celulă *(zigot)*, din care se va dezvolta individul.

Embriologia face parte din grupa mare a ştiinţelor biologice şi studiază transformările pe care le suferă *zigotul* până la apariţia unui nou individ.

Mamifere
- dezvoltarea intrauterină
  - *perioada embrionară*: până la diferenţierea completă a organelor
  - *perioada fetală*: până la parturiţie (fătare)
- dezvoltarea extrauterină (postnatală sau postfetală) de la parturiţie la maturitate

Păsări
- dezvoltarea în ou (în sensul uzual al cuvântului): de la zigot până la ecloziune
- dezvoltarea posteclozională: de la ecloziune până la maturitate

Prima parte a procesului dezvoltării o constituie *perioada embrionară* (până la diferenţierea completă a organelor). Ea este urmată de o *perioadă fetală*, cu durata până la *parturiţie (fătare)*. Cele două perioade (embrionară şi fetală) alcătuiesc o etapă în care dezvoltarea are loc în organismul matern la mamifere, respectiv în uter, de unde şi denumirea de *dezvoltare intrauterină* (perioada intrauterină), continuată prin actul parturiţiei cu procesul dezvoltării în afara organismului matern, perioadă denumită extrauterină (*postnatală* sau *postfetală*). Pentru păsări se remarcă perioada dezvoltării în ou până la *ecloziune*, urmată de *perioada posteclozională*.

Scanned with OKEN Scanner

Fazele dezvoltării ontogenetice sunt : *gametogeneza, fecundaţia, segmentaţia, gastrulaţia, histogeneza, organogeneza, creşterea şi dezvoltarea postnatală sau posteclozională.*

1. GAMETOGENEZA

Gametogeneza reprezintă totalitatea transformărilor prin care trec celulele germinale primordiale (*spermatogoniile* şi *ovogoniile*) până la stadiile de celule sexuale mature (*spermatozoidul* şi *ovulul*).
Procesul de gametogeneză parcurge trei perioade : a) *de multiplicare ;* b) *de creştere ;* c) *de maturare.*

1.1. Spermatogeneza

Este procesul de formare al spermatozoizilor în tubii seminiferi ai testiculului (fig. 1.1).

Celulele seminale sunt aşezate pe mai multe rânduri, fie în înfundăturile membranei polului apical al celulelor Sertoli, fie pe vitroasa tubului seminifer şi sunt într-o continuă evoluţie care cuprinde două etape : *spermocitogeneza* şi *spermiogeneza* (fig. 1.1).

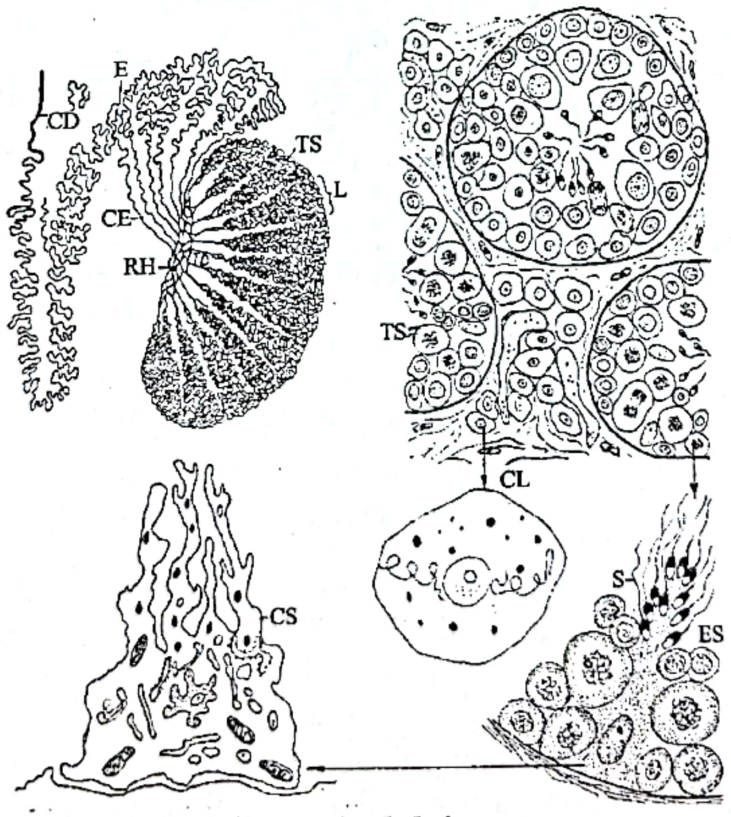


Fig. 1.1 ***Structura histologică a testicului*** :
L-lobul testicular ; TS-tub seminifer ; TD-tub drept ; RH-reţeaua Haller ; CE-conurile eferente ; E-epididim ; CD-canal deferent ; CL-celule Leydig la MO ; ES-epiteliu seminifer ; CS-celula Sertoli ; S-spermatozoizi

Scanned with OKEN Scanner

Celulele seminale derivă unele din altele şi în cadrul celor două etape pe care le parcurg sunt patru tipuri: *spermatogonii, spermatocite , spermatide* şi *spermatozoizi*. Acestea reprezintă etape intermediare ale formării spermatozoizilor şi se găsesc în diferite proporţii în permanenţă în structura citologică a epiteliului tubilor seminiferi (fig. 1.2).

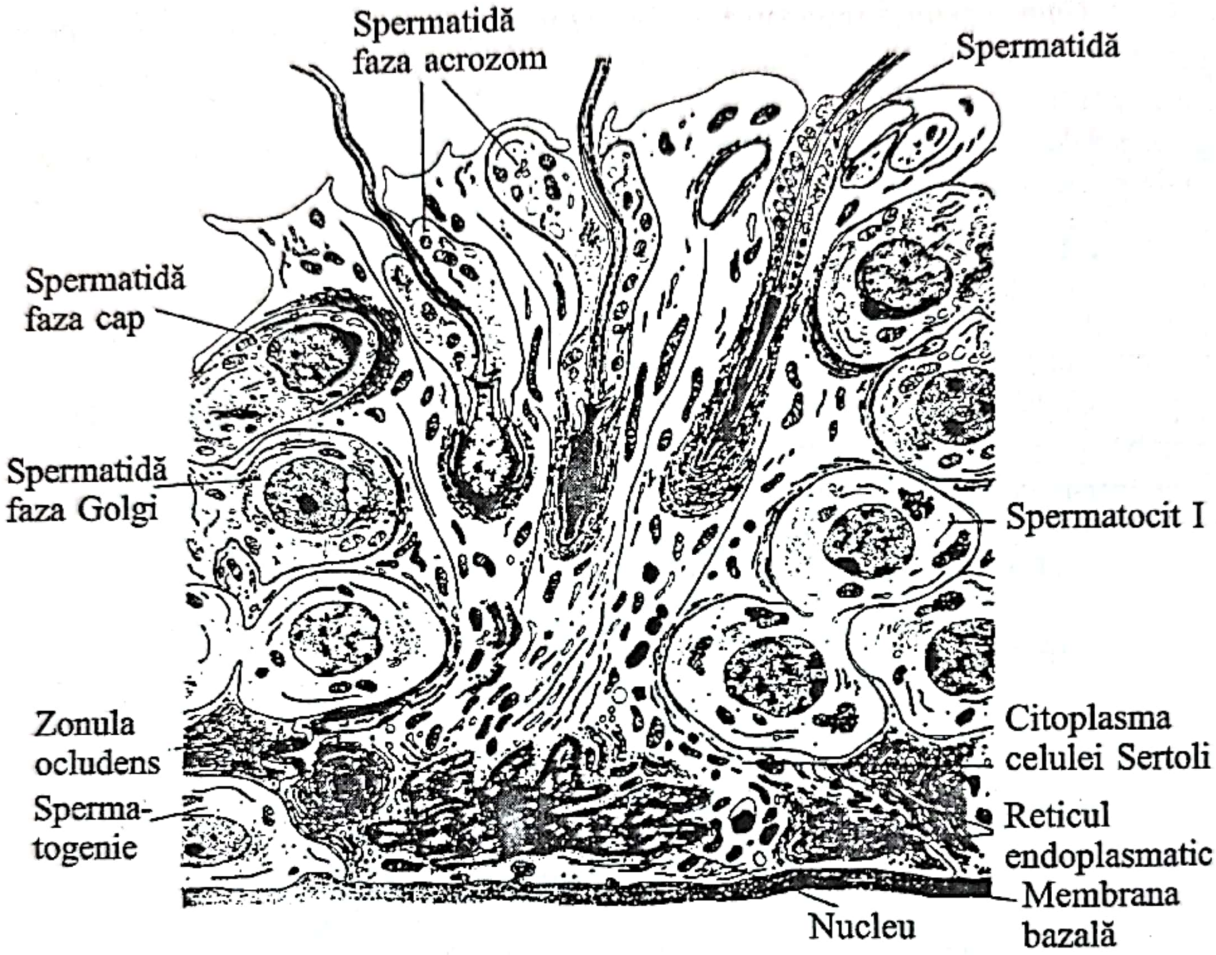


Fig. 1.2. ***Schema celulei Sertoli şi linia seminală în tubul seminifer la taur*** (*după Liebich, H.G., 1999*).

1.1.1. Spermocitogeneza

Este etapa de la spermatogonie la spermatidă. *Spermatogoniile* derivă din gonocitele cordoanelor sexuale ale testiculului fetal şi sunt localizate pe un singur rând pe vitroasa tubului seminifer. Ele sunt mici, cu un diametru de 10-12 µm, poliedrice sau sferice cu nucleul aşezat central şi sferic. Citoplasma este puţin abundentă, bazofilă şi conţine mitocondrii numeroase, o zonă Golgi în apropierea nucleului şi centrul celular. După aspectul nucleului se disting două tipuri de spermatogonii: *de tip A - prăfoase* şi de *tip B-crustoase*.

Scanned with OKEN Scanner

Spermatogoniile de tip A - prăfoase au nucleul cu cromatina de aspect pulverulent. Din ele iau naştere prin mitoză două celule fiice : A_1 identică cu celula mamă şi care rămâne în rezervă şi o celulă A_2, care continuă linia seminală. Astfel, spermatogoniile A_2 prin mitoză vor forma *spermatogonii B - crustoase,* care au cromatina dispusă sub formă de blocuri mari. Acestea, prin mitoză, vor forma spermatogonii intermediare care trec prin perioada de creştere devenind spermatociţi de ordinul I (fig. 5.6).

Spermatociţii primari (spermatociţii de ordinul I) se dispun pe 2-3 rânduri deasupra spermatogoniilor din care iau naştere prin mitoză. Ele sunt sferice sau ovalare, cu citoplasmă ce conţine mitocondrii, o zonă Golgi foarte evidentă şi centrul celular. Aceste celule cresc foarte mult în volum, sunt cele mai mari între celulele seminale, atingând un diametru de 18-20 µm, cu numeroase incluzii în citoplasmă.

Spermatociţii secundari (spermatociţii de ordinul II) sunt celule *haploide*, derivă prin meioză şi sunt dispuse deasupra spermatocitelor primare de ordinul I. Ele sunt celule mici, cu diametrul de 9-11 µm, cu nucleul ovalar, cu citoplasmă redusă, ce conţine mitocondrii, o zonă Golgi şi centrul celular. Spermatocitele de ordinul II prin diviziune ecuaţională dau naştere la *spermatide (celule haploide).* Astfel, dintr-o *spermatogonie B* vor rezulta *16 spermatide.*

În concluzie, spermatogeneza cuprinde trei perioade :

a) *perioada germinativă* (de multiplicare, de diviziune) în care spermatogoniile de tip A se divid ecuaţional, rezultând dintr-o spermatogonie A_2, 8 spermatogonii intermediare cu un număr diploid de cromozomi *(2n).*

b) *perioada de creştere* caracterizată prin faptul că ultima generaţie a spermatogoniilor fiice (spermatogoniile intermediare), intră într-o lungă perioadă intermitotică ; citoplasma lor acumulează substanţe nutritive şi devin *spermatociţi primari (de ordinul I)* a căror garnitură cromozomială este tot diploidă *(2n).*

c) *perioada de maturare* în care spermatocitul primar suferă o diviziune reducţională rezultând două *spermatocite de ordinul II (secundare).* Ca urmare a acestei diviziuni, spermatocitul secundar primeşte numai jumătate din conţinutul ADN al nucleului, în acest mod garnitura cromozomială este *haploidă* şi redusă la jumătate *(n).*

Spermatidele se localizează în înfundăturile membranelor polilor apicali ai celulelor Sertoli. Ele au un diametru de 9 µm, sunt dispuse pe trei rânduri spre lumenul tubului seminifer. Spermatida are o formă triunghiulară, cu un nucleu ovalar aşezat central şi cu citoplasma slab bazofilă ce conţine o zonă Golgi evidentă, numeroase mitocondrii de formă granulară şi un centru celular. *Spermatidele* nu se mai divid şi se transformă direct în *spermatozoizi.*

Scanned with OKEN Scanner

1.1.2. Spermiogeneza

Modificările morfologice pe care le suferă spermatida pentru a deveni spermatozoid, constituie procesul de *spermiogeneză*.

1.1.2.1. Spermatozoidul

Pentru a înţelege spermiogeneza este necesar să se prezinte structura spermatozoidului (fig. 1.3) care este constituit din *cap* şi *coadă* (flagel).

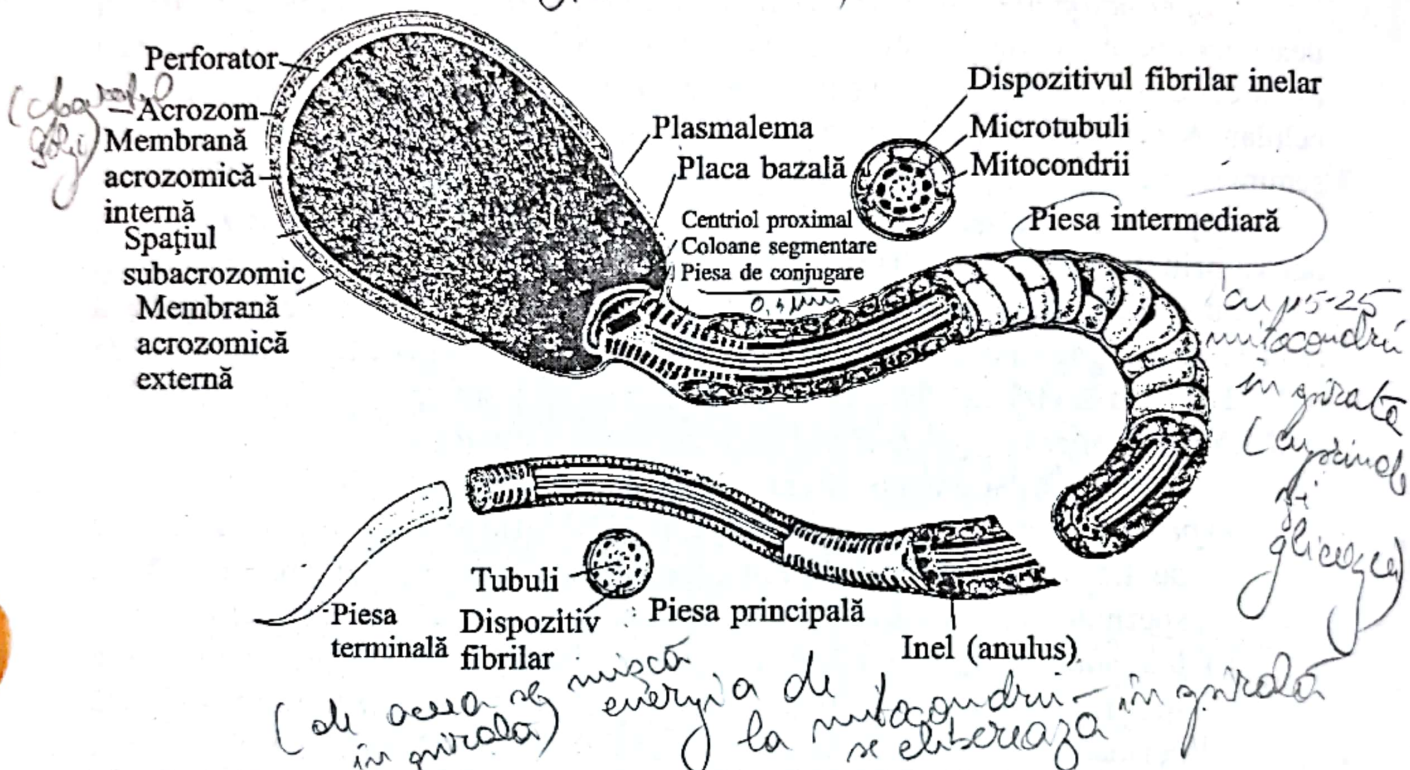


Fig. 1.3. ***Spermatozoid de taur, schemă*** *(după Liebich, H.G., 1999)*

Capul constituie partea care conţine nucleul celulei cu n cromozomi. Forma capului este *ovalară* (armăsar, taur, vier), *seceră* (şobolan), *spiralat* (cocoş), *pară* (iepure, câine). La exterior se remarcă plasmalema trilaminată ce conţine în structura sa receptori specifici.

Acrozomul este situat la polul anterior al nucleului şi rezultă din complexul Golgi în procesul de spermiogeneză. Citoplasma este redusă cantitativ şi este condensată, formată din glicoproteine mai ales între plasmalemă şi acrozom, structurând *capişonul cefalic*, ce se întinde pe două treimi din suprafaţa nucleului. Acrozomul conţine hidrolaze acide: hialuronidaza şi fosfataza acidă cu rol în depolimerizarea acidului hialuronic ce cimentează celulele foliculare din corona radiată a ovocitului, care în final conduce la dispersarea celulelor foliculare.

Între acrozom şi membrana nucleară se află *perforatorul* cu rol de penetrare a plasmalemei ovocitului. În momentul pătrunderii spermatozoidului, perforatorul formează un canal în citoplasmă prin care se transferă conţinutul nucleului spermatozoidului.

La polul inferior al nucleului, citoplasma formează două condensări numite *protuberanţele bazale,* formaţiuni proteice semicirculare ce înconjoară zona inferioară a nucleului. Între protuberanţele bazale se delimitează un spaţiu denumit *fosa de implantare*, ce apare ca o excavaţie cu rol de a adăposti extremitatea anterioară a filamentului axial din structura cozii spermatozoidului.

Flagelul (coada) spermatozoidului este structurat din patru segmente : *piesa de conjugare, piesa intermediară, piesa principală* şi *piesa terminală.*

1. Piesa de conjugare este de 0,4 µm şi se află între *centriolul proximal* şi *jumătatea anterioară a centriolului distal* şi reprezintă centrul kinetic al spermatozoidului.

În această piesă se descriu următoarele :

– *placa bazală*, o lamă fixă de citoplasmă ce se află în fosa de implantare ;

– *capitelul* este segmentul superior al complexului centriolar, aflat în contact cu placa bazală ;

– *coloanele segmentare* sunt proteine- fibrilare dispuse radiar în jurul centriolului proximal şi reprezintă rădăcinile axonemei, fiind sintetizate de ribozomii spermatidei ;

– *centriolul proximal* reprezintă centrul de coordonare al mişcărilor flagelului şi este situat sub capitel. Este un cilindru lung de 500 nm şi cu diametrul de 250 nm, ce conţine 9 triplete de microtubuli (A, B, C) periferice. Pe microtubuli sunt ataşate moleculele de dineină cu activitate ATP-azică şi cu rol în polimerizarea şi depolimerizarea tubulinei. *Dineina* se prezintă sub forma unor braţe (cleşti) dispuse la distanţa de 24 nm ;

– *dispozitivul fibrilar* este format din 9 proteine fibrilare dense, ce înconjoară filamentul axial de la piesa de conjugare până la terminarea piesei principale ;

– *jumătatea anterioară a centriolului distal* are structură microtubulară.

Între piesa de conjugare şi cea intermediară, celulele imature prezintă citoplasmă suplimentară sub formă de *picătură citoplasmatică*, care este fagocitată de celulele Sertoli, dispariţia ei semnificând maturarea spermatozoidului.

2. Piesa intermediară are lungimea de 5-10 µm, este *segmentul* cuprins între cele *două jumătăţi (anterioară şi posterioară)* a centriolului distal şi este considerată *«centrala energetică a spermatozoidului»*. Membrana celulară formează la limita dintre *piesa intermediară* şi cea *principală* un *inel (annulus).*

Piesa intermediară este formată din *axonema (filamentul axial)*, *dispozitiv fibrilar, teaca mitocondrială* şi *glicogen.*

Axonema (filamentul axial) este structurată din microtubuli organizaţi după modelul 2 centrali şi 9 dublete periferice (*subfibra A* şi *subfibra B)*. Subfibra A, numită şi microtubul complet, este formată din *13 protofilamente (protofibrile)*, de care este ataşat microtubulul incomplet *(subfibra B)* format din *11 protofibrile*. Subfibra A prezintă două braţe în formă de cleşte (spiculi) în compoziţia cărora intră o proteinenzimă numită *dineină* bogată în ATP-ază. Dineina apare în lungul microtubulului complet la intervale regulate de *24 nm*.

La intervale mai mari între dubletele vecine apar legături elastice formate dintr-o proteină numită *nexină* (fig. 1.4).

În timpul mişcării flagelului se produce alunecarea dubletelor, unul în raport cu celălalt şi în consecinţă încovoierea axonemei. Această alunecare a dubletelor se face prin deplasarea punţilor laterale ce se stabilesc între dineină şi dubletul adiacent. În acest sistem perfect se desfac şi se refac legăturile dineinei cu dubletul adiacent,

Scanned with OKEN Scanner

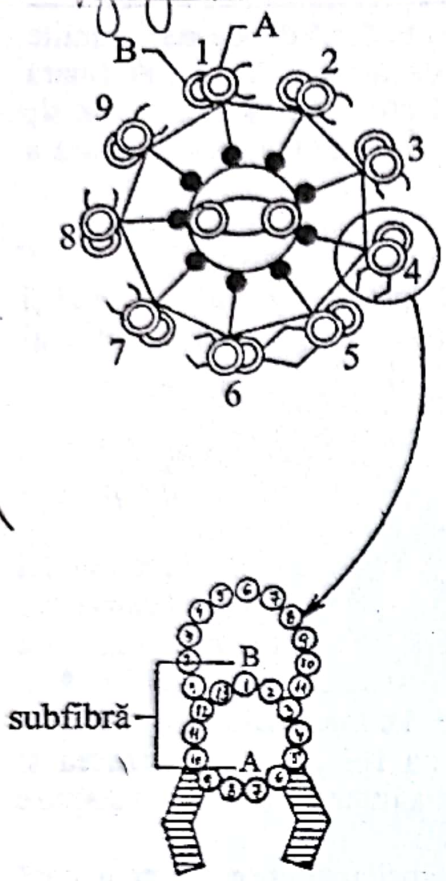


Fig. 1.4. ***Secţiune transversală prin axonemă***

se realizează glisarea dubletelor, unul faţă de celălalt, cu spiralizarea flagelului.

Dispozitivul fibrilar este structurat din 9 *fibrile proteice* ce înconjoară la exterior cele 9 dublete periferice de microtubuli. Aceste fibrile proteice sunt o continuare a *coloanelor segmentare* din piesa de conjugare şi conferă rigiditate piesei intermediare. La exteriorul celor 9 fibrile proteice se evidenţiază 2 fibrile proteice groase, inegale ca mărime, care se dispun uşor spiralat imprimând mişcare helicoidală cozii spermatozoidului.

Teaca mitocondrială este formată din 15-25 mitocondrii care se dispun spiralat în jurul axonemei. Crestele tubulare spiralate din mitocondrii conţin numeroase particule elementare în care se localizează enzima numită *factorul de cuplare* F_1, care posedă activitate ATP-azică.

Glicogenul se dispune printre mitocondrii sub formă de depozite mici, reprezentând rezerva de glicogen a spermatozoidului folosit în fosforilarea oxidativă, pentru transformarea lui în energie, fiind sursă de energie a spermatozoidului.

3. Piesa principală este segmentul cel mai lung al cozii spermatozoidului (40-50 µm) şi este structurată din *axonemă (filamentul axial)* cu dispoziţia microtubulilor *2+9 dublete periferice* şi *dispozitivul fibrilar* constituit din *9 proteine fibrilare* situate la periferia dubletelor periferice. La exteriorul celor 9 fibrile se remarcă *2 fibrile proteice groase*, inegale ca mărime, care se dispun uşor spiralate, ce imprimă mişcarea de rotire în jurul propriului ax al spermatozoidului. Această mişcare de rotire este transformată în mişcare de înaintare spiralată datorită scheletului tecii fibrilare. La periferia tecii fibrilare se evidenţiază o citoplasmă redusă delimitată la exterior de plasmalemă.

4. Piesa terminală are o lungime de 3-4 µm, în structura ei intră axonema cu structura microtubulară clasică de *2+9 dublete periferice*.

Spermiogeneza. Modificările morfologice pe care le suferă *spermatida* la trecerea ei în *spermatozoid*, interesează în primul rând *nucleul, zona Golgi, centrul celular* şi *mitocondriile* (fig. 1.5). Elementele componente ale nucleului se condensează şi nucleul devine o masă omogenă şi densă. Nucleolul se fragmentează şi apoi dispare. Astfel, volumul nucleului diminuează mult, fără pierderea elementelor sale genetice. Nucleul devine excentric, se polarizează şi se alungeşte.

Ansamblul acestor transformări sunt cuprinse în patru faze, ce se desfăşoară la polul apical al celulelor Sertoli : *faza Golgi, faza cap, faza acrozom* şi *faza de maturare*.

1. Faza Golgi este caracterizată prin formarea *veziculelor paraacrozomiale* din veziculele aparatului Golgi care se dispune la polul anterior al nucleului.

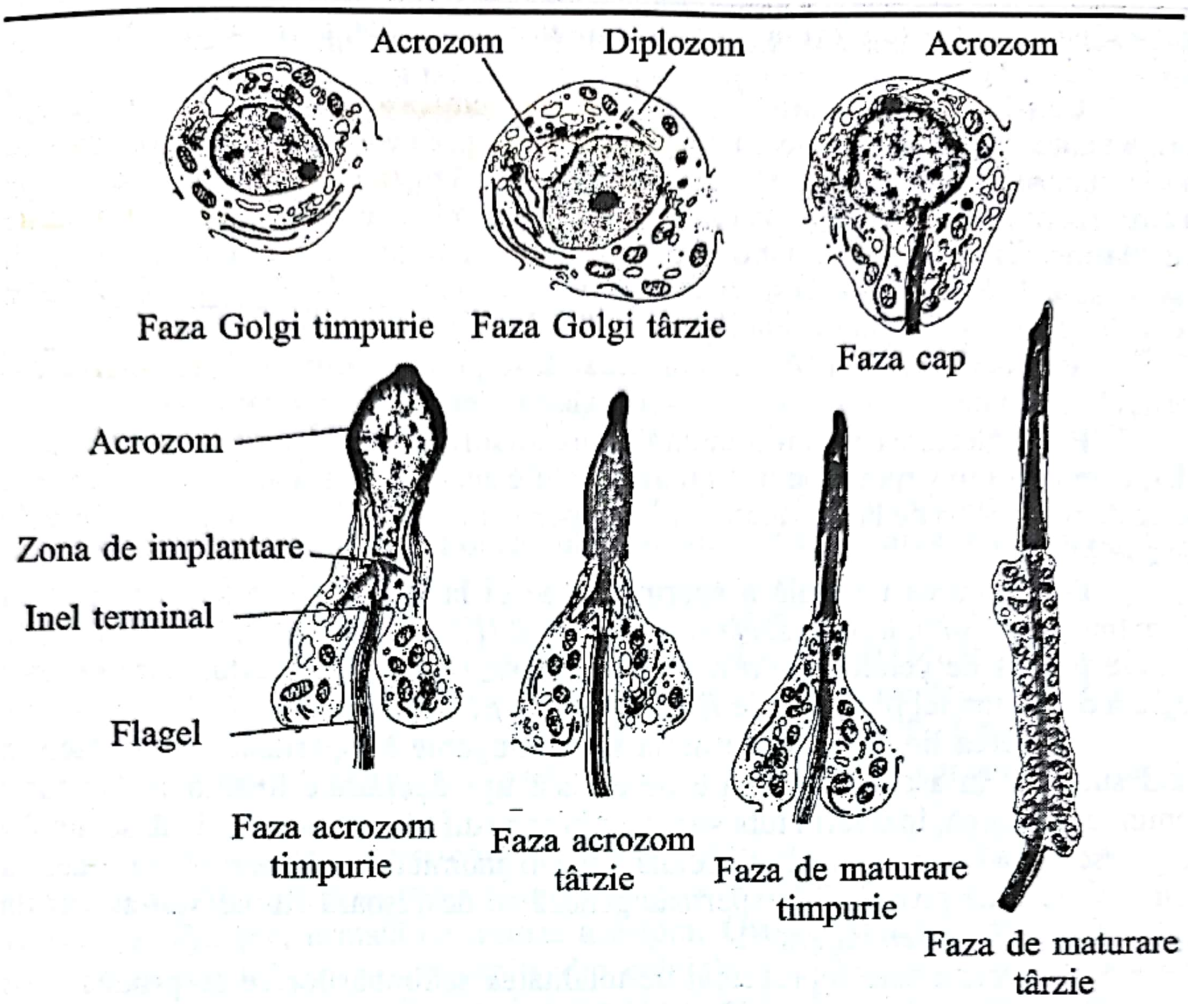


Fig. 1.5. ***Spermiogeneza la taur, schemă*** *(după Liebich, H.G., 1999)*

Microtubulii centrului celular migrează în citoplasma polului posterior al nucleului. În această zonă, cei doi centrioli se separă, unul se evidenţiază în vecinătatea polului posterior al nucleului *(centriolul proximal)*, iar celălalt în apropierea membranei celulare *(centriolul distal)*.

2. *Faza cap* în care veziculele paraacrozomiale se unesc într-o singură veziculă *(veziculă acrozomală)* care se separă de aparatul Golgi şi se dispune la polul anterior al nucleului. O mare parte din microtubuli se condensează între cei doi centrioli şi structurează *filamentul axial*, care va constitui viitoarea *axonemă* a spermatozoizilor.

3. *Faza acrozom* în care vezicula acrozomală se transformă în *acrozom*, ce acoperă extremitatea anterioară a nucleului. Nucleul pierde o parte din apă, cromatina se condensează şi astfel devine compact. Axonema creşte în lungime, structurând piesa de conjugare şi piesa intermediară. Centriolul distal se separă în două jumătăţi : *anterioară*, ce se situează între piesa de conjugare şi piesa intermediară şi *posterioară* sub formă de inel *(inelul Jansen)* ce înconjoară axonema între piesa intermediară şi piesa principală.

La extremitatea posterioară a nucleului, citoplasma formează o manşetă în jurul piesei de conjugare.

4. *Faza de maturare*. O parte din citoplasma din manşetă rămâne prezentă la limita dintre piesa de conjugare şi cea intermediară, ca apoi să fie prezentă în jurul

piesei intermediare sub forma unei *picături citoplasmatice*, care va fi fagocitată de celulele Sertoli.

Cele 15-25 mitocondrii se dispun spiralat în jurul axonemei piesei intermediare, printre mitocondrii se acumulează granule de glicogen, ce vor constitui sursa de energie a spermatozoidului. Axonema se alungeşte şi formează piesa principală şi cea terminală a cozii spermatozoidului. Spermatozoizii rezultaţi astfel, au capul implantat în faldurile citoplasmei celulelor Sertoli, iar cozile spre lumenul tubilor seminiferi, aspect denumit *fasciculaţie*. În funcţie de unda spermatogenetică, spermatozoizii se desprind din faldurile celulelor Sertoli şi trec în lumenul tubilor seminiferi.

Spermatozoizii sunt celule *haploide (n)*, o jumătate din numărul lor total din testicul conţin cromozomul sexual X şi cealaltă jumătate cromozomul Y.

Prin injectarea intratesticulară a precursorului ADN radioactiv (timidină H_3), care a fost încorporat de nucleii unor celule germinale, s-a apreciat că întreaga serie de modificări de la spermatogonie la spermatozoizi ar necesita aproximativ *54 de zile la taur.*

Desfăşurarea normală a spermatogenezei la masculi este sub dependenţa *hormonului de stimulare a spermatogenezei SSH*, omologul hormonului FSH la femele produs de celulele *beta din adenohipofiză*. Secreţia acestui hormon este reglată de hormonul hipotalamic *FSH-RH (SSH-RH)*.

Formarea liniei seminale de la spermatogonie la spermatozoid se face în mod succesiv în asociaţii celulare de acelaşi tip. Secţiunile histologice în tubii seminiferi arată că, în diferiţi tubi sau chiar în zone diferite ale aceluiaşi tub seminifer se găsesc numai anumite asociaţii celulare într-o anumită fază de dezvoltare. Aceasta demonstrează că procesul de spermatogeneză se desfăşoară ritmic sub aspect de *ciclu al epiteliului seminifer.*

Acest ciclu este reprezentat de totalitatea schimbărilor ce se produc pe o suprafaţă dată a epiteliului seminifer între două apariţii succesive ale aceleiaşi asociaţii celulare. Timpul dintre două apariţii ale aceleiaşi asociaţii celulare constituie *durata ciclului spermatogenetic* (tab. 1.1.).

Tabelul 1.1. ***Durata ciclului epiteliului seminal şi spermatogeneza*** *(după THIBAULT, LEVASSEUR, 1991)*

Specia	Durata (zile)	
	Ciclul epiteliului seminal	Spermatogeneza
VIER	8,6	34,1
BERBEC	10,4	49,0
TAUR	13,5	54,0
CÂINE	13,6	54,4
OM	16	74

Succesiunea populaţiei celulare constituie *valul* sau *unda spermatogenetică*. În strânsă interdependenţă cu ciclul epiteliului seminifer se găseşte şi evoluţia celulelor

Scanned with OKEN Scanner

Sertoli. Acestea sunt celule mari, piramidale, ce se întind pe toată lungimea epiteliului seminifer. Forma şi volumul lor variază în decursul ciclului seminifer, plasticitatea lor fiind dependentă de evoluţia celulelor germinale.

1.2. Ovogeneza şi foliculogeneza la mamifere

1.2.1. Ovogeneza

Ovogeneza este un proces reprezentat prin dezvoltarea stadială de la *ovogonie*, până la formarea *ovulului* (gametul sexual femel). Ceea ce particularizează ovogeneza sunt trei aspecte :

- celulele germinale intră în diviziune la puţin timp după diferenţierea sexuală a gonadei embrionare ;
- ovogeneza este un proces continuu (dar nu de formare, ci de evoluţie) ;
- multiplicarea ovogoniilor este determinată înainte de expulzarea fetusului, care se naşte cu această «zestre».

Ovogeneza - se desfăşoară într-o succesiune de *perioade* : *perioada de multiplicare (proliferare) ; perioada de creştere* şi *perioada de maturare*. Corespunzător segmentului genital în care aceste *perioade* au loc, sunt descrise două stadii : *stadiul ovarian* al ovogenezei şi *stadiul tubar* al acesteia (BOGDAN, A.T., 1994).

Sub aspect citomorfologic, particularităţile stadiului ovarian se caracterizează prin (fig. 5.5) :

Perioada de multiplicare (de proliferare sau germinativă). În această *perioadă* are loc formarea ovogoniilor, care provin din gonocitele *cordoanelor lui Valentin şi Pflüger*, urmată de mitoza acestora. Ovogonia este înconjurată de un strat de celule foliculare, provenite din celulele mici vegetative aplatizate ale cordoanelor lui Valentin şi Pflüger, şi un ţesut conjunctiv delicat, formaţiunea rezultată fiind denumită *folicul primordial*. Dimensiunea ovogoniei este de 15-20 μm are o formă sferică sau ovoidă şi o structură reprezentată printr-un nucleu veziculos nucleolat, citoplasmă, în care se remarcă aparatul Golgi, mitocondrii, ribozomi şi reticulul endoplasmatic.

Perioada de multiplicare are loc, în totalitate, în viaţa embrionară când ovogoniile intră în diviziune imediat după diferenţierea sexuală a gonadei embrionare.

Perioada de creştere are loc după parturiţie. Ovocitele de ordinul I cresc treptat şi se înconjoară cu *zona pelucidă* formată din *proteoglicani*. În perioada pregenitală şi chiar genitală un număr foarte mare de ovocite de ordinul I degenerează prin procesul de citoliză. Această scădere, de aproape 30 ori la vacă şi 4 ori la oi, se produce după o dinamică diferită, în funcţie de specie. Astfel, o viţică la vârsta de 3 luni are aproximativ 75.000 ovocite ; la 3 ani 21.000 ; la 10 ani, vaca mai are 2.500 ovocite ; la scrofiţa de 1 lună se găsesc circa 60.000 ovocite, la 9 luni 36.000, iar la o adultă 16.000.

Perioada de creştere a ovocitelor primare de ordinul I are loc la nivelul foliculului ovarian cavitar.

Perioada de maturare începe la pubertate şi este caracterizată prin formarea *foliculilor maturi ovulatori* şi prin prezenţa fenomenului de ovulaţie.

La unele specii, înainte de ovulaţie sau după ovulaţie, are loc prima diviziune de maturaţie - *diviziunea meiotică reducţională*, fenomen ce duce la formarea

Scanned with OKEN Scanner

ovocitelor de ordinul II. Acestea au un număr haploid de cromozomi; cealaltă jumătate a setului cromozomial (de forma unei celule mici, cu citoplasmă săracă) situată sub membrana pelucidă, formează *primul globul polar*. La oaie şi şobolan, primul globul polar este eliminat cu circa 4 ore înaintea ovulaţiei; la căţea ovulaţia precede eliberarea primului globul polar.

În decursul fazei de maturaţie intervin hormonii gonadotropi: *FSH pentru maturarea foliculară* şi *LH pentru ovulaţie.*

Stadiul tubar este manifestat prin a doua diviziune de maturaţie, reprezentată de a doua meioză de tip particular, ecuaţională, ce conduce la transformarea ovocitului de ordinul II în ovul cu eliberarea celui de al doilea globul polar.

Diviziunea ecuaţională are loc în oviduct, după dehiscenţa foliculară; mai târziu este eliberat şi cel de-al doilea globul polar. Acest proces are loc numai în cazul fecundaţiei.

1.2.2. Foliculogeneza

Fenomen ce se desfăşoară concomitent cu ovogeneza - se caracterizează prin stadii de *foliculi primari, secundari* şi *terţiari (cavitari incipienţi, cavitari propriu-zişi, maturi* şi *dehiscenţi-ovulatori).*

Pentru o prezentare cât mai didactică a foliculogenezei în ovar, corelată cu ovogeneza, se vor prezenta sintetic rezultatele unor investigaţii intreprinse în acest sens la suinele femele (COTEA şi colab., 1985, 1998) (tab. 1.2.; 1.3.; 1.4.).

Dimensiunile ovogoniilor, ovocitelor, membranei pelucide şi a celulelor foliculare în cadrul foliculogenezei în ovarul suinelor femele din rasa Landrace sunt redate în tab. 1.3. Din analiza acestui tabel se constată că ovogonia creşte în volum de la 21,5-31,0 µm, în cadrul foliculului primordial din ovarul femelei în vârstă de 3 zile, până la stadiul de ovocit de ordinul II de 125,5-180,0 µm corespunzător foliculului matur din ovarul femelei în estrus.

Creşterea în volum are loc treptat în cadrul ovogenezei, când ovogonia este supusă unui proces de evoluţie până la stadiul de *ovocit de ordinul II*, din structura foliculului dehiscent. În evoluţia sa, viitorul gamet sexual deşi este de tip *oligolecit*, acumulează picături de lipide, glicoproteine şi acid L-ascorbic, ce constituie incluziile de rezervă. Cu Sudan IV se evidenţiază lipidele în cantitate crescută, sub formă de picături mari, în stadiile de ovocit de ordinul I şi ovocit de ordinul II în cadrul foliculilor maturi şi dehiscenţi (tab. 1.4). Comparativ cu cele observate în ovarul suinelor femele din rasa Marele alb, în toate etapele de evoluţie ale viitorului gamet sexual femel, acesta are dimensiuni mici. Dimensiunile nucleului cresc de la 10,5-11,5 µm, la ovogonia din structura *foliculului primordial*, la 30,0-40,5 µm, la ovocitul de ordinul II din foliculul dehiscent. Membrana pelucidă lipseşte în cadrul *foliculilor primordiali* din ovarul suinelor femele de 3 zile (fig. 1.6) şi începe să se schiţeze la foliculii secundari în ovarul de 37 zile (fig. 1.7). Dimensiunea ovogoniei în cadrul foliculului primordial din ovarul de trei zile este de 21,5-31,0 µm, iar nucleul este de 10,5-11,5 µm. Celulele foliculare sunt aplatizate de 2,5 µm, în jurul ovogoniei (fig. 1.6). În *foliculul secundar* din ovarul femelei de 37 zile, ovocitul are dimensiunea de 39,5-95,5 µm, iar nucleul este de 17,5-18,5 µm (fig. 1.7). Celulele foliculare sunt cubice, organizate pe două rânduri.

Foliculogeneza în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în proestrus şi estrus a fost urmărită şi la vârstele de 150-270 zile. În cadrul foliculogenezei s-au urmărit principalele etape, cu menţionarea numărului de foliculi maturi la femelele în estrus.

Scanned with OKEN Scanner

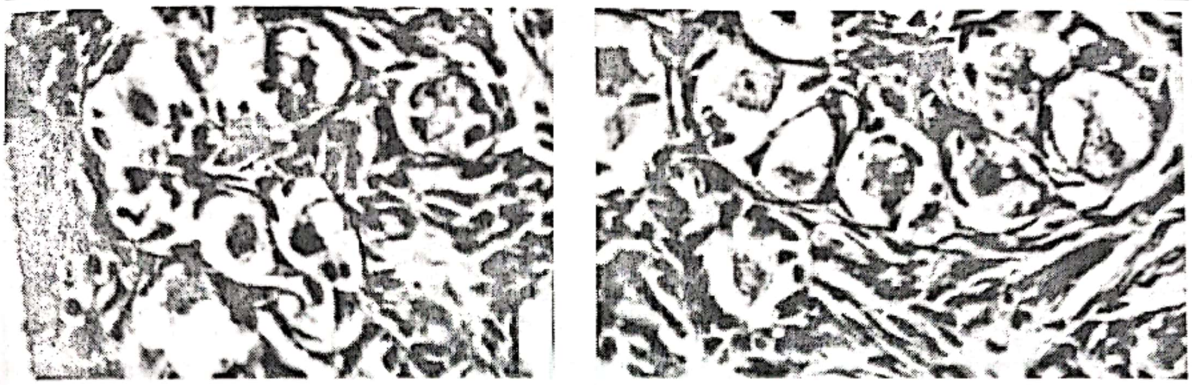
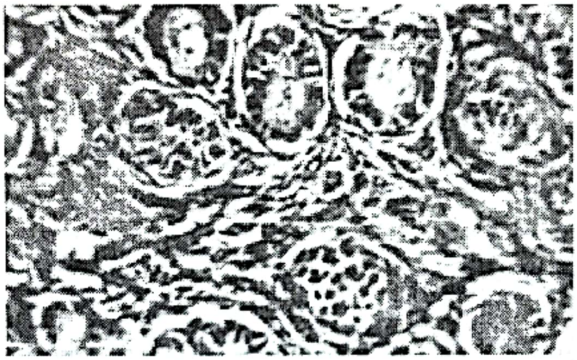


Fig. 1.6. ***Foliculi primordiali şi primari în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 3 zile****. Col. PAS ; x200.*



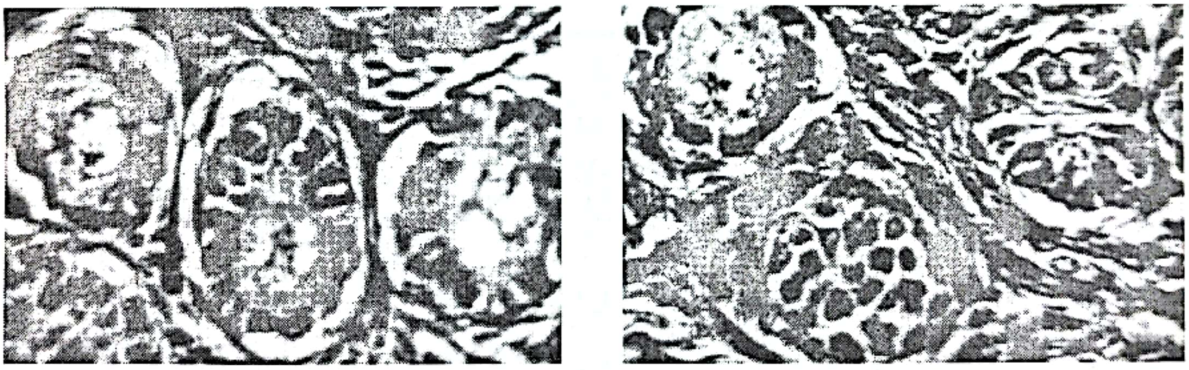


Fig. 1.7. ***Foliculi primari şi secundari în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 37 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

Din analiza tab. 1.2, se constată că ovarul stâng are mai mulţi foliculi maturi decât cel drept, aspect întâlnit şi la rasa Marele alb (COTEA şi colab., 1985). De menţionat numărul corespunzător de foliculi pentru o prolificitate optimă la vârsta de 220-230 zile la rasa Landrace faţă de Marele alb (260-285 zile). De remarcat faptul că primele femele depistate în estrus la rasa Landrace au fost la vârsta de 150 zile faţă de Marele alb - 170 zile, ceea ce sugerează precocitatea sexuală a rasei Landrace.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.2 *Numărul foliculilor maturi şi a corpilor luteali involutivi din ovarul suinelor femele în estrus din rasa Landrace, în vârstă de 150-270 zile (după COTEA C., 1999)*

Vârsta femelelor în zile	Numărul femelelor	Faza ciclului sexual	Numărul foliculilor maturi		Numărul corpilor luteali involutivi	
			Ovar drept	Ovar stâng	Ovar drept	Ovar stâng
150-170	5	estrus	5-7	7-8	4-5	5-7
180-190	5	estrus	6-9	8-11	4-7	5-8
220-230	5	estrus	6-10	9-12	4-8	8-10
250-270	5	estrus	8-10	9-14	6-9	8-11

Tabelul 1.3 *Dimensiunea (în µm) a unor structuri histologice în cadrul foliculogenezei, în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 1-270 zile (după COTEA, C., 1999)*

Fazele foliculogenezei	Ovogonie, ovocit		Membrana pelucidă	Celule foliculare	
	Celula	Nucleul		Celula	Nucleul
Foliculi primordiali	21,5-31,0	10,5-11,5	–	2,5	1,0-1,2
Foliculi primari	45,5-60,5	14,5-17,5	0,4-0,7	6,0	2,0-3,0
Foliculi secundari	39,5-95,5	17,5-18,5	1,2-2,0	6,5	3,0-4,0
Foliculi cavitari incipienţi	99,5-115,5	18,5-25,0	2,0-2,5	9,5-11,5	5,5-6,5
Foliculi cavitari propriu-zişi	119,5-135,5	19,0-27,5	2,5-3,0	10,5-12,0	6,5-7,5
Foliculi maturi	125,5-180,0	24,5-35,5	3,5-4,5	11,5-14,0	7,5-8,0
Foliculi dehiscenţi	145,5-168,5	30,0-40,5	4,0-5,0	12,0-14,0	7,5-8,0

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.4 *Prezenţa glicoproteinelor, lipidelor şi acidului L-ascorbic în componentele histologice ale foliculilor cavitari, maturi şi dehiscenţi la suinele femele din rasa Landrace în vârstă de 150-270 zile (după COTEA, C., 1999)*

Componentele foliculului	Glicoproteine			Lipide			Acid L-ascorbic		
	LC	FM	FD	FC	FM	FD	FC	FM	FD
Ovocit	+	++	+++	+	+++	++++	–	+	+
Membrana pelucida	++	+++	++++	–	–	–	–	–	–
Corona radiată	+	+	++	+	++	+++	++	++	++
Cumulus proliger	+	+	++	+	++	+++	++	++	++
Lichid folicular	+++	++++	++++	+	+	+	+	+	+
Granuloasa	+	+	+	++	+++	++++	++	++	++
Teaca internă	–	–	+	++	+++	++++	++	+++	++++

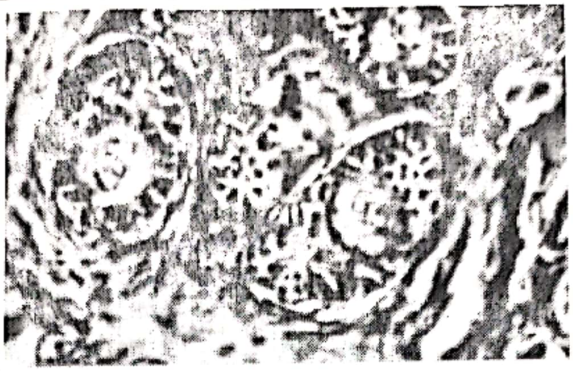
*) FC - folicul cavitar
FM - folicul matur
FD - folicul dehiscent
**) - lipsă
\+ cantitate redusă
++ cantitate moderată
+++ cantitate crescută
++++ cantitate foarte crescută

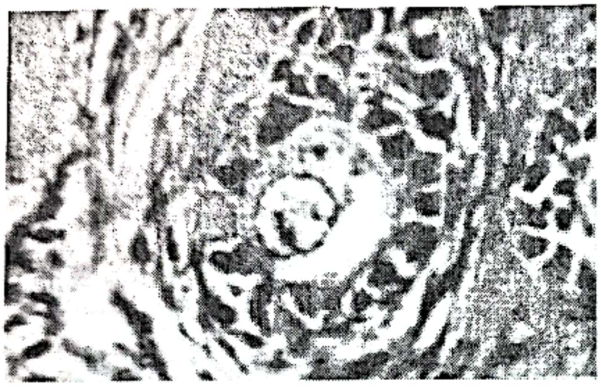
În cadrul foliculogenezei din ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 150-310 zile, etapele parcurse de foliculi sunt aceleaşi, dar pentru a exemplifica prin iconografie aspectele morfologice şi histochimice, se va menţiona pentru fiecare stadiu al foliculului vârsta femelei de la care provine.

Foliculii primari din ovarul femelelor în vârstă de 3 zile (fig. 1.6), se grupează în corionul citogen al ovarului a căror ovogonii au dimensiunea de 45,5-60,5 µm, iar nucleul este de 14,5-17,5 µm. Celulele foliculare cubice au dimensiunea de 6,0 µm şi sunt organizate pe un singur rând în jurul membranei pelucide PAS-pozitivă şi foarte subţire de 0,4-0,7 µm.

Foliculii secundari la vârsta de 65 şi 90 zile (fig. 1.8 ; 1.9), conţin ovocitele cu dimensiunea medie de 39,5-95,5 µm şi cu incluzii în ovoplasmă. Nucleul acestora are dimensiunea de 17,5-18,5 µm şi cu nucleolul evident de 2,5-3,0 µm. Celulele foliculare au dimensiunea medie de 6,5 µm, cu nucleul de 3,0-4,0 µm, sunt organizate pe două, trei rânduri în jurul membranei pelucide de 1,2-2,0 µm. Celulele foliculare încep să secrete lichidul folicular PAS-pozitiv care apare sub formă de lacune printre ele. Pe măsură ce se acumulează lichidul folicular, se formează *foliculii cavitari incipienţi* la vârsta de 140 zile (fig. 1.10).

Scanned with OKEN Scanner





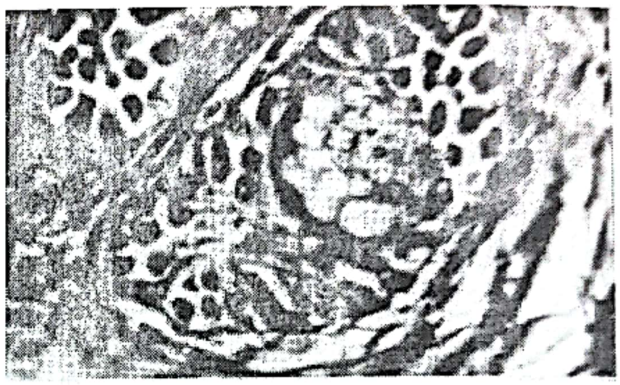
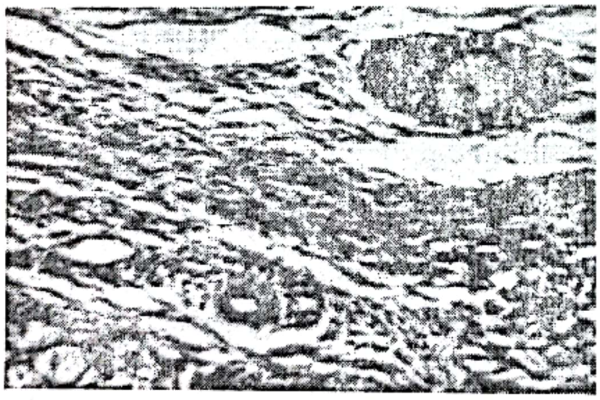


Fig. 1.8. ***Foliculi secundari în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 65 zile,*** *Col. PAS ; x200 ; x400.*



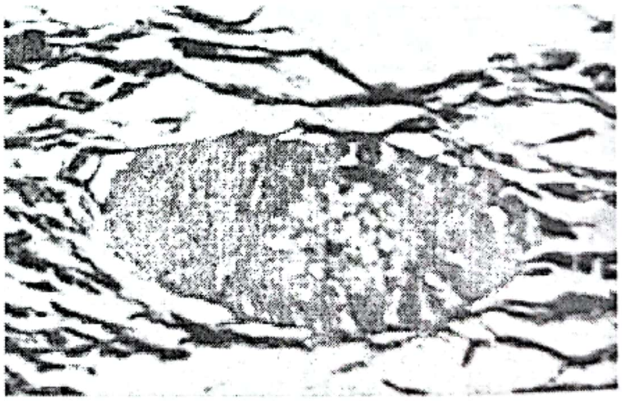


Fig. 1.9. ***Folicul secundar în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 90 zile,*** *Col. PAS ; x200 ; x400.*

Scanned with OKEN Scanner

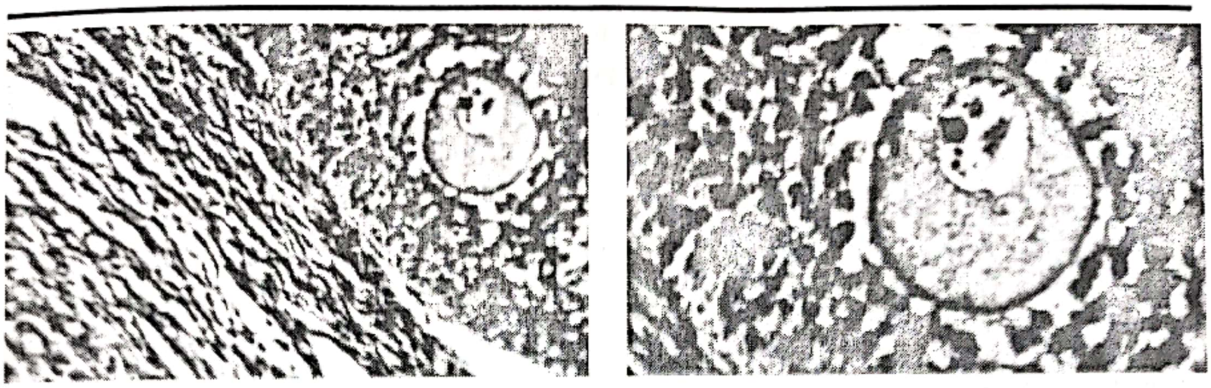


Fig. 1.10. ***Folicul cavitar incipient în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 140 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

Ovocitele au dimensiuni de 99,5-115,5 µm, iar nucleul este de 18,5-25,0 µm. Membrana pelucidă este PAS-pozitivă de 2,0-2,5 µm, iar celulele foliculare din jur sunt de 9,5-11,5 µm, cu nucleul de 5,5-6,5 µm. În intervalul de 170-190 zile, s-au evidenţiat în ovar numeroşi foliculi cavitari cu ovocitul bine conturat (fig. 1.11 ; 1.12).

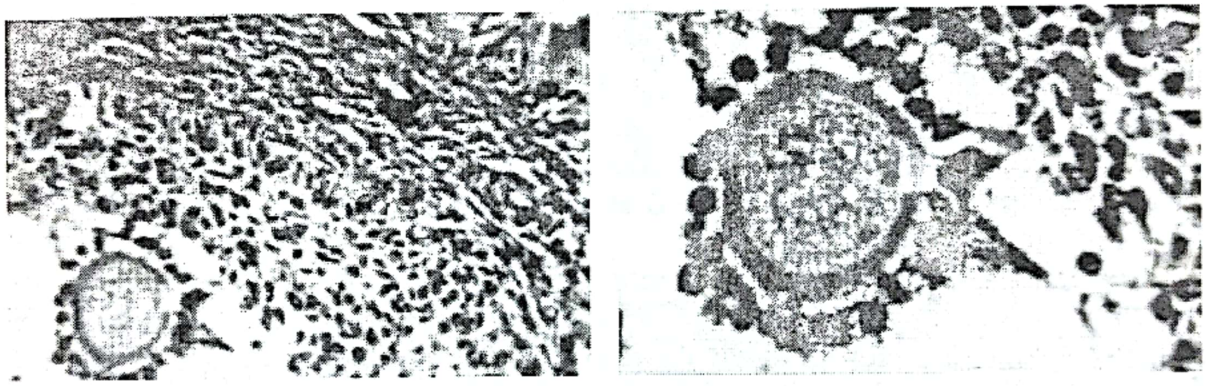


Fig. 1.11. ***Folicul cavitar propriu-zis în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 170 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

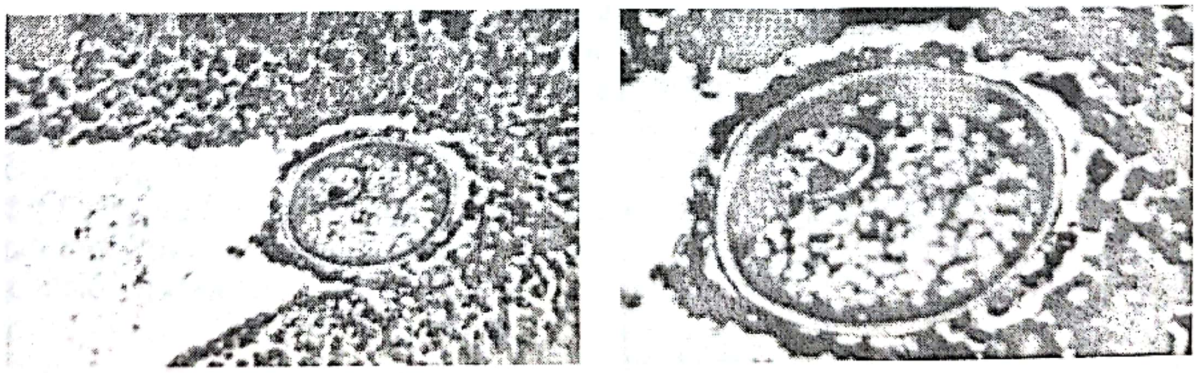


Fig. 1.12. ***Folicul cavitar propriu-zis în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 190 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

Scanned with OKEN Scanner

Celulele foliculare eliberează lichidul folicular în cantitate crescută în antrumul foliculilor cavitari, care ţine sub tensiune pereţii foliculilor, organizând şi structurând *granuloasa, membrana Slawjansky, teaca internă* şi *teaca externă*. Începând cu această etapă, în proestrus şi estrus la unele femele din rasa Landrace au fost studiate principalele structuri ale foliculilor (ovocit, membrana pelucidă, corona radiata, cumulus proliger, lichid folicular, granuloasă şi teaca internă) sub aspect citochimic şi histochimic (tab. 1.4). În aceste faze ale ciclului sexual, în ovarul suinelor femele, alături de celelalte stadii ale foliculogenezei, se remarcă în mod deosebit *foliculi cavitari, foliculi maturi* şi *foliculi dehiscenţi*, a căror structuri sub aspect histochimic sunt redate în tab. 1.4.

Analizând acest tabel se remarcă diferenţe nete între foliculii *cavitari propriu-zişi, maturi* şi *dehiscenţi*. Astfel, în ovoplasmă, lipidele şi glicoproteinele cresc cantitativ până la stadiul de *ovocit de ordinul II,* corespunzător *foliculului dehiscent*. În cele două stadii ale ovocitului cuprinse în foliculii maturi şi dehiscenţi s-au evidenţiat granule rare de acid L-ascorbic. Membrana pelucidă corespunzătoare acestor trei stadii (folicul cavitar, matur şi dehiscent) este lipsită de acid L-ascorbic şi lipide, în schimb conţine cantităţi crescute de glicoproteine neutre, ceea ce face ca în coloraţia PAS să fie intens PAS-pozitivă.

În citoplasma celulelor coronei radiata şi ale cumulusului proliger s-au evidenţiat glicoproteine neutre, lipide şi acid L-ascorbic, care cresc cantitativ până la stadiul de folicul dehiscent.

Lichidul folicular în toate etapele foliculogenezei este bogat în glicoproteine neutre, conţinând şi rare picături de lipide şi granule de acid L-ascorbic. Celulele granuloasei conţin cantităţi reduse de glicoproteine neutre, în timp ce acumularea de picături de lipide şi granule de acid L-ascorbic înregistrează un maxim în faza de folicul dehiscent.

Celulele tecale sunt bine conturate şi acumulează cantităţi crescute de *colesterol, esteri de colesterol, grupări -COOH* şi *acid L-ascorbic* pe măsură ce foliculul devine dehiscent. Prezenţa acestor incluzii în citoplasma celulelor tecale, demonstrează steroidogeneza care se desfăşoară la un nivel ridicat în stadiul de folicul dehiscent, corespunzător fazei de estrus a ciclului sexual. Granulele de acid L-ascorbic sunt prezente în citoplasma celulelor tecale, fiind implicate în procesul de elaborare a hormonilor estrogeni. Numai în stadiul de folicul dehiscent s-au remarcat granule foarte rare de glicoproteine; în citoplasma celulelor tecale, în stadiile de folicul cavitar şi matur, acestea lipsesc.

În *foliculii cavitari propriu-zişi*, ovocitele de ordinul I (fig. 1.11 ; 1.12) au dimensiunea de 119,5-135,5 µm, iar nucleul este de 19,0-27,5 µm. În ovoplasmă se constată prezenţa în cantităţi reduse a lipidelor şi a glicoproteinelor neutre (tab. 1.4). Membrana pelucidă este de 2,5-3,0 µm, iar celulele foliculare ale granuloasei au dimensiunea de 10,5-12,0 µm, cu nucleul de 6,5-7,5 µm. Lichidul folicular acumulează cantităţi crescute de glicoproteine şi reduse de lipide şi acid L-ascorbic. Celulele tecii interne conţin cantităţi moderate de incluzii implicate în steroidogeneză (tab. 1.4).

Următoarea etapă în cadrul foliculogenezei este foliculul matur descris la femele în vârstă de 220-270 zile (fig. 1.13 ; 1.14 ; 1.15).

Scanned with OKEN Scanner

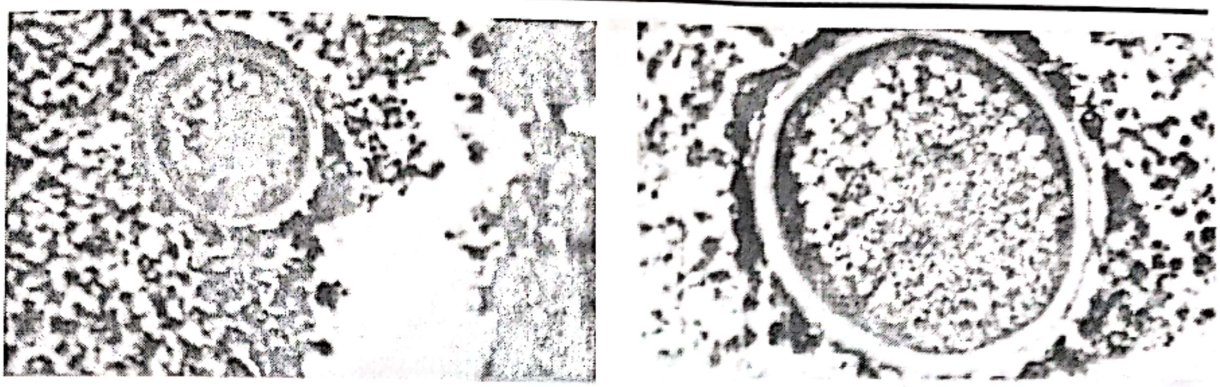


Fig. 1.13. ***Folicul matur în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 220 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

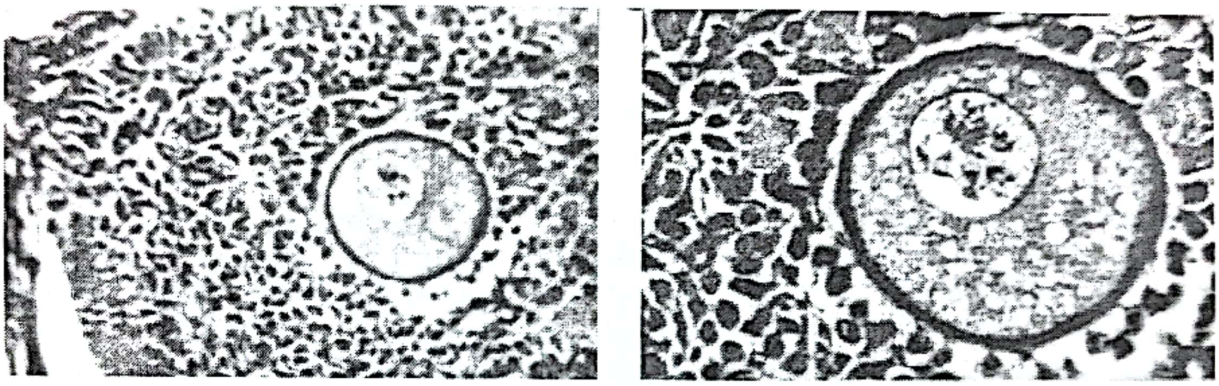


Fig. 1.14. ***Folicul matur în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 250 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

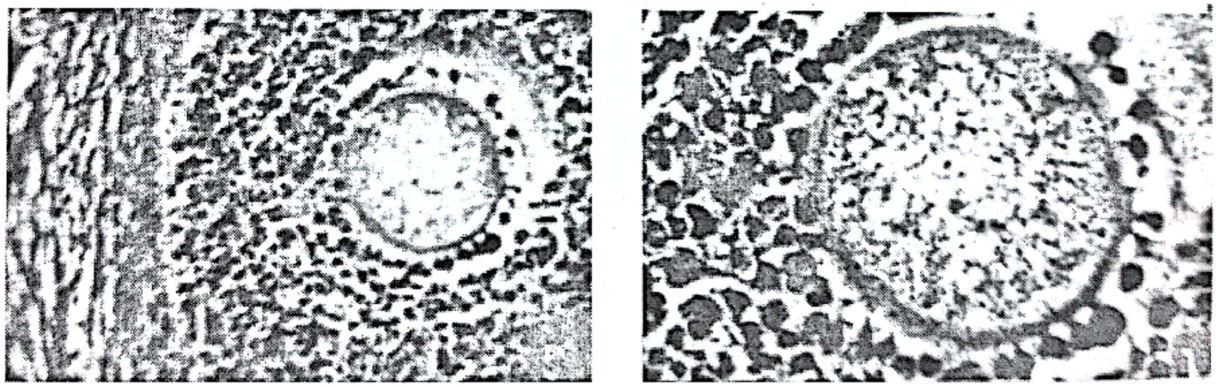


Fig. 1.15. ***Folicul matur în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 270 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

Dezvoltarea foliculilor în ovarul femelelor se află sub dependenţa *hormonului adenohipofizar FSH* şi acesta la rândul lui, este secretat sub acţiunea *hormonului hipotalamic FSH-RH*.

Celulele foliculare secretă sub influenţa FSH-ului şi în acest mod îşi fac apariţia spaţii mici neregulate, pline cu lichid folicular, care prin fuzionare dau naştere la o cavitate semilunară plină cu lichid folicular, numită cavitate folicular sau *antrum*. Prin formarea acestei cavităţi, o parte din celulele foliculare sunt împinse

Scanned with OKEN Scanner

spre periferie, unde se dispun pe mai multe rânduri pe *membrana bazală Slawjansky*, structurând *granuloasa*. Altă parte din celule rămân în jurul ovocitului, cu care proemină în antrumul folicululului. Grupul de celule prin care ovocitul păstrează legătura cu granuloasa se numeşte *«discul proliger»* (*cumulus proliger* sau *ooforus*), iar celulele care se dispun în jurul ovocitului, structurează corona radiata (fig. 1.16). Ovocitul creşte foarte mult în volum (140-150 µm), acumulând în ovoplasmă principii nutritivi, lipide şi glicoproteine. Nucleul este veziculos, de 25 µm, uşor excentric, nucleolat şi cu cromatină fină granulară. În ovoplasmă se remarcă organite bine dezvoltate.

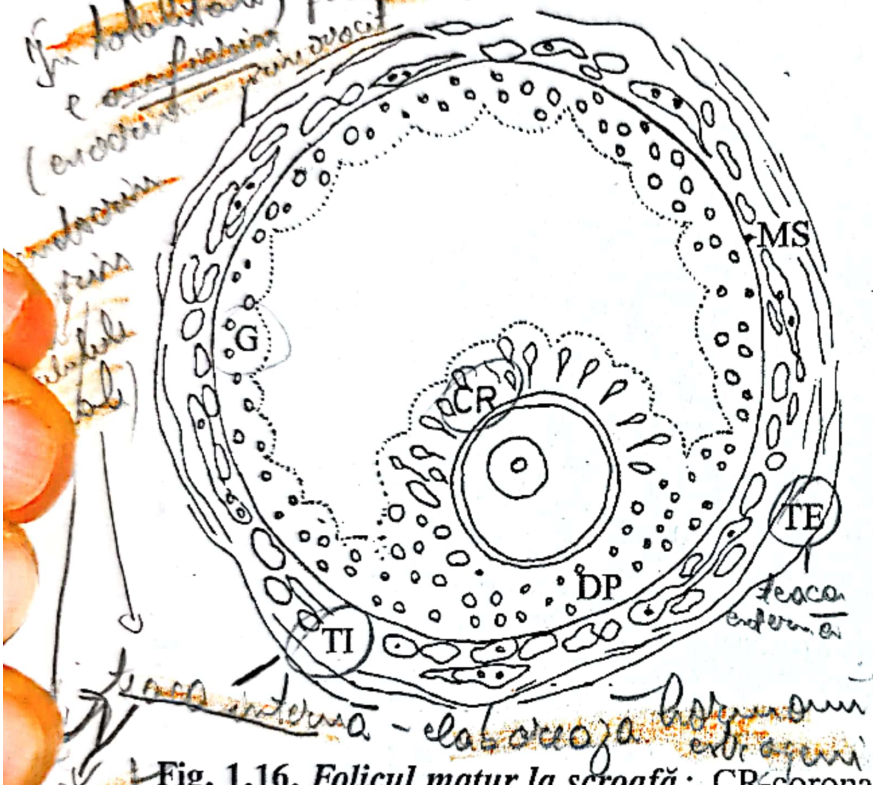


Fig. 1.16. ***Folicul matur la scroafă*** : CR-corona radiata ; DP-discul proliger ; G-granuloasa ; MS- membrana Slawjansky ; TI-teaca internă ; TE-teaca externă.

Datorită aspectului veziculos, nucleul a fost denumit *veziculă germinativă*, iar nucleolul - *pată germinativă*. În ovoplasmă, organitele au atins stadiul final al diferenţierii lor. Aparatul Golgi este localizat perinuclear şi periferic, adaptare funcţională legată se pare atât de concentrarea substanţelor de rezervă (vitelus), cât şi în partea de conturare netă a zonei pelucide. Mitocondriile sunt numeroase cu aspect caracteristic de «*glugă*» în apropierea cărora se remarcă un reticul endoplasmatic granular cu elemente dispuse «*lax*» (*R.E. lax*). Ribozomii sunt dispuşi fie liberi, fie ataşaţi de pereţii reticulului endoplasmatic granular. De asemenea au fost observaţi numeroşi lizozomi primari şi corpi multiveziculari, urmare a pinocitozei intense întâlnită la membrana vitelină a ovocitului.

În ovoplasma periferică se remarcă formaţiuni membranoase de 0,1-0,3 µm, numite *granule corticale* ce conţin proteoglicani. Membrana plasmatică prezintă numeroşi microvili care se întrepătrund cu prelungirile celulelor din corona radiata sau realizează cu acestea joncţiuni de tip desmosomal. Aceste joncţiuni şi prezenţa veziculelor pinocitare la acest nivel, demonstrează preluarea materialului nutritiv din zona pelucidă, ceea ce explică prezenţa granulelor corticale în ovoplasma periferică.

Membrana pelucidă este groasă, formată din proteoglicani şi cu aspect striat după fixare şi colorare. Electronomicroscopic, s-a demonstrat că aspectul striat se datorează microvililor celulelor din corona radiata şi ai membranei viteline (fig. 1.17).

Scanned with OKEN Scanner

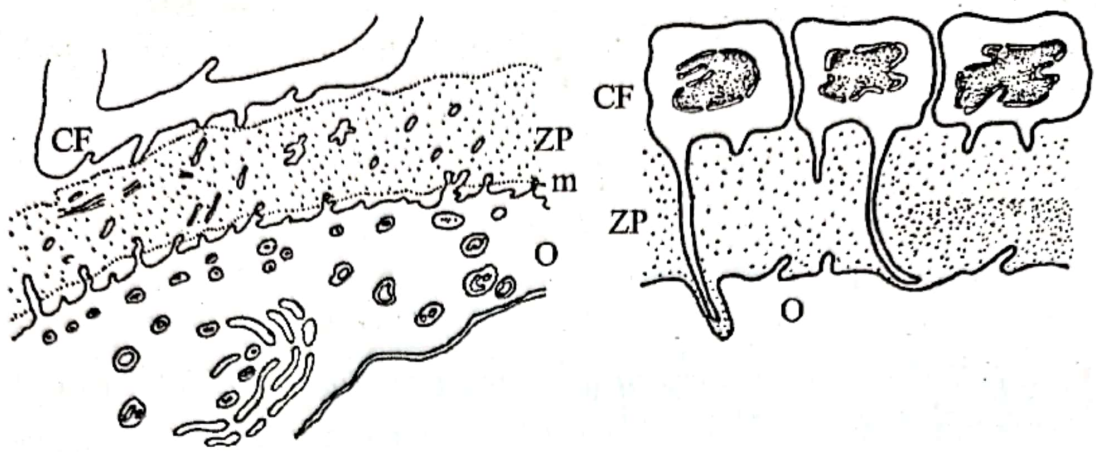


Fig. 1.17. ***Relaţia celulelor foliculare din corona radiata cu ovocitul de ordinul I la ME*** : CF-celula foliculară din corona radiata cu prelungiri ; ZP-zona pelucidă ; m-microvilozităţi ; O-ovocit de ordinul I.

Celulele foliculare ale coronei radiata au aspect de măciucă, sunt legate prin desmozomi între ele şi printr-un ciment format din glicoproteine în compoziţia cărora predomină acidul hialuronic. Aceste celule prezintă caracteristici infrastructurale care sugerează o sinteză activă de material nutritiv (pe seama substanţelor din lichidul folicular, necesar ovocitului).

Spaţiile intercelulare ale celulelor granuloasei se lărgesc şi în acest mod se creează căi de comunicare între ovocit şi membrana Slawjansky, prin aceste căi substanţele nutritive din vasele tecii interne (structurile foliculului delimitate de membrana Slawjansky nu sunt vascularizate), pot trece uşor până la ovocit şi vor fi preluate de aceasta prin pinocitoză, singura barieră (filtru), rămânând pentru ovocit zona pelucidă.

Membrana pelucidă a ovocitului II corespunzător foliculului matur este groasă de 3,5-4,5 µm,intens PAS-pozitivă, datorită conţinutului crescut în glicoproteine (tab. 1.4). Ovocitele au dimensiunea de 125,5-180,0 µm, nucleul este de 24,5-35,5 µm, iar nucleolul de 5,5-6,5 µm. Celulele foliculare structurează o corona radiata pe mai multe rânduri şi au dimensiunea de 11,5-14,0 µm, iar nucleul de 7,5-8,0 µm. Lichidul folicular este foarte bogat în glicoproteine şi sărac în lipide şi acid L-ascorbic. Celulele granuloasei conţin cantităţi crescute de lipide implicate în steroidogeneză. Celulele tecii interne conţin cantităţi crescute de colesterol, esteri de colesterol, grupări -COOH şi acid L-ascorbic.

Foliculii dehiscenţi studiaţi la toate vârstele, sunt prezentaţi ca iconografie numai la vârstele de 300 şi 310 zile (fig. 1.18 ; 1.19). Ovocitul de ordinul II în aceşti foliculi are dimensiunea de 115,5-168,5 µm, iar nucleul de 30,0-40,5 µm. Uneori a fost surprins momentul desprinderii din cumulus proliger. În ovoplasmă se evidenţiază cantităţi crescute de glicoproteine şi foarte crescute de lipide. Membrana pelucidă este groasă de 4,0-5,0 µm, bogată în gligoproteine neutre şi intens PAS-pozitivă. Celulele foliculare au dimensiunea de 12,0-14,0 µm cu nucleul de 7,5-8,0 µm şi însoţesc ovocitul de ordinul II desprins de cumulus proliger. Celulele granuloasei şi cele tecale conţin în citoplasmă cantităţi crescute de incluzii implicate în steroidogeneză, ceea ce demonstrează elaborarea hormonilor steroizi sexuali la un nivel ridicat în faza de estrus a ciclului sexual.

Scanned with OKEN Scanner

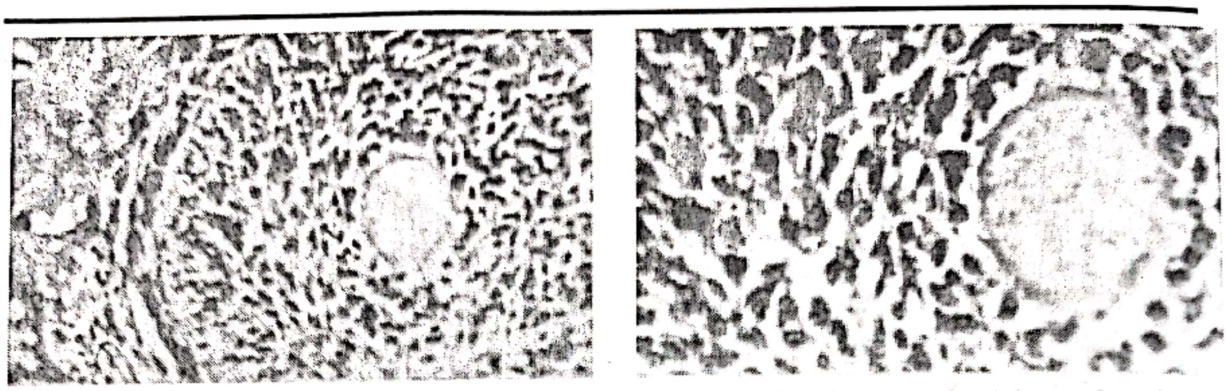


Fig. 1.18. ***Folicul dehiscent în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 300 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

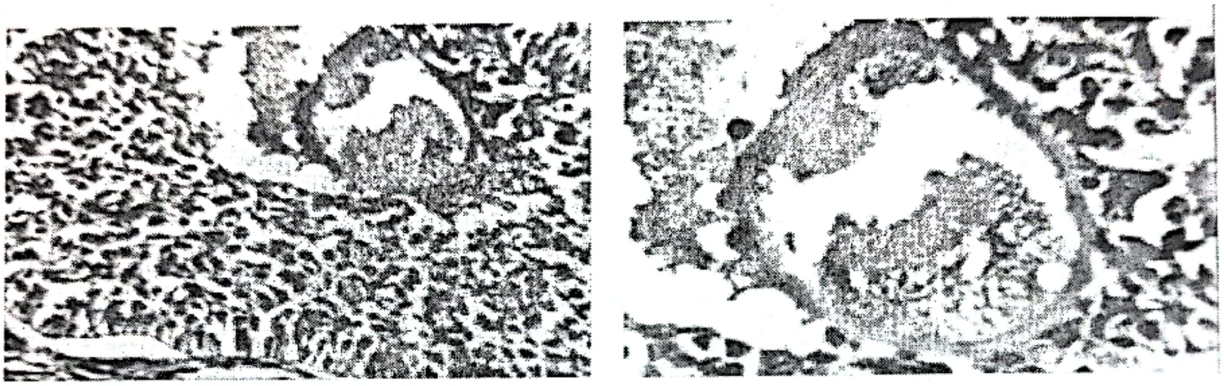


Fig.1.19. ***Folicul dehiscent în ovarul suinelor femele din rasa Landrace în vârstă de 310 zile****, Col. PAS ; x200 ; x400.*

Pentru speciile *politocice* (ce eliberează mai multe ovocite de ordinul II), la suprafaţa ovarului se remarcă mai mulţi foliculi (suine, carnivore, leporide) în timp ce la speciile *monotocice* (ce eliberează un singur ovocit de ordinul II, în cazuri excepţionale două), se evidenţiază un singur folicul (equine, taurine, ovine), (fig. 1.20). Aceşti foliculi apar în ovarul femelelor odată cu instalarea pubertăţii, în perioada genitală a acestora, în faza premergătoare căldurilor (proestrus).

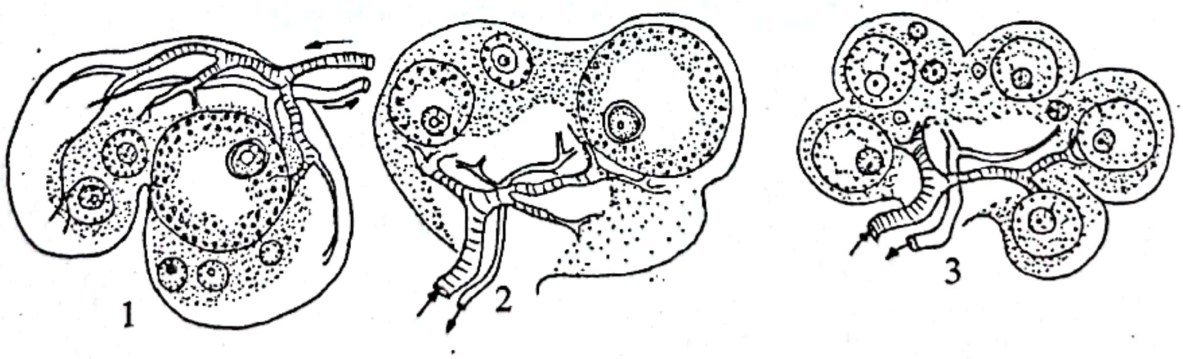


Fig. 1.20. ***Structura ovarului la diferite specii în faza de estrus a ciclului sexual*** : 1-equine ; 2-bovine ; 3-suine.

Scanned with OKEN Scanner

Foliculii maturi, au aspectul unor vezicule ºi au dimensiuni ce variază în funcţie de specie: 10-15 mm la iapă, 12-15 mm la vacă, 7-8 mm la oaie, capră şi scroafă, 2-10 mm la căţea şi de 1-2 mm la pisică.

La unele specii (pisică, nutrie şi iepuroaică), au fost observaţi şi *foliculi poliovocitari*. Aceştia îşi urmează cursul normal de foliculi maturi şi dehiscenţi, cu morfologia asemănătoare celor cu un singur ovocit descris anterior. Faptul că în corionul citogen al ovarului de nutrie se evidenţiază cordoane formate din ovogonii şi celule vegetative, demonstrează că spre deosebire de mamiferele evoluate, morfogeneza ovarului de nutrie se opreşte în faza de cordoane celulare, ce oferă posibilitatea de formare a foliculilor poliovocitari prin alipirea şi apoi fuzionarea *foliculilor secundari*. Formarea foliculilor poliovocitari sugerează că maturarea ovocitelor la nutrie are loc cu economie de substanţă corticală, dat fiind că femela manifestă estrus, la 4 zile după parturiţie.

1.2.2.1. Lichidul folicular

Lichidul folicular este foarte abundent, PAS-pozitiv şi în ceea ce priveşte originea şi compoziţia la suine, cercetările au demonstrat că este un transsudat al plasmei sanguine la care se adaugă componentele elaborate de celulele granuloasei şi cele ale tecii interne. S-a demonstrat că lichidul folicular cristalizează diferit în funcţie de faza ciclului sexual. Aspectele deosebite ale cristalizării lichidului folicular în proestrus şi estrus la femelele animalelor domestice sunt rezultatul adăugării la extravazatele din plasmă, care sunt originea lichidului folicular, a hormonilor steroizi sexuali elaboraţi de celulele tecii interne.

Lichidul folicular al suinelor, constituie un mediu de cultură adecvat pentru foliculii ovarieni şi prin hormonii care îi conţin (hormoni steroizi sexuali şi gonadotropine), exercită o acţiune asupra peretelui folicular, mai ales în regiunea *stigmei*, o zonă mai vascularizată şi mai subţire a peretelui folicular, reprezentând locul pe unde se va produce *ovulaţia*.

În citoplasma celulelor granuloasei s-au evidenţiat: lipide, colesterol, funcţiuni –COOH, esteri de colesterol, acid L-ascorbic, ceea ce demonstrează steroidogeneza.

Celulele granuloasei participă la formarea lichidului folicular prin pierderea parţială a citoplasmei şi prin exfoliere. Acest aspect se evidenţiază prin prezenţa în lichidul folicular a celulelor foliculare, a lipidelor, a proteinelor, a sferelor ocluze şi a corpilor multiveziculari.

1.2.2.2. Glanda interstiţială

La suine, glanda interstiţială este reprezentată de totalitatea *tecilor interne* ale foliculilor maturi şi dehiscenţi, de aceea mai poartă denumirea de *glanda tecală* cu atribute endocrine, elaboratoare de hormoni estrogeni.

La ovine, glanda interstiţială este localizată atât în *teaca internă* cât şi în parenchimul ovarian la distanţă de foliculul matur.

În proestrus, în apropierea membranei Slawjansky, se remarcă celulele tecale şi numeroase celule mezenchimale pe cale de diferenţiere în celule tecale. Acestea au dimensiuni de 8-10 µm ºi sunt fusiforme, alungite sau neregulate, polarizate la capilarele sanguine de tip sinusoid, numeroase şi dilatate. Uneori aceste celule se organizează în şiraguri paralele cu membrana Slawjansky a foliculilor în creştere.

În estrus, celulele tecale sunt bine conturate, ovale, poligonale sau fusiforme, cu dimensiunea medie de 10-12 µm, cu citoplasma vacuolară şi nucleul

Scanned with OKEN Scanner

veziculos, nucleolat şi bogat în cromatină. În coloraţia Papanicolau, citoplasma celulelor tecale se evidenţiază cu aspect mozaicat, dat de prezenţa zonelor oranjofile care alternează cu cele bazofile.

Celulele tecale, după dehiscenţa foliculului matur, pătrund în interiorul cavităţii acestuia şi împreună cu celulele granuloasei, prin metaplazie, organizează *corpul luteal ciclic*, corespunzător fazei de metestrus. Unele celule rămân la periferia parenchimului luteal ciclic, păstrând caracterele de celule tecale. De evidenţiat faptul că această teacă nu-şi păstrează integritatea în toate regiunile corpului luteal ciclic, ci ea apare discontinuă, dispărând pe zone apreciabile.

Localizarea şi structurarea netă a celulelor interstiţiale tecale în apropierea membranei Slawjansky a foliculilor maturi şi la periferia corpilor luteali ciclici, demonstrează că glanda tecală ovariană la suine este dependentă de formaţiunile dinamice din aceasta (foliculii maturi şi *corpii luteali ciclici*), ceea ce ne determină să afirmăm că această glandă este legată de buna desfăşurare a funcţiei de reproducţie la suine.

În citoplasma celulelor tecale se evidenţiază: *proteoglicani, acizi graşi, acetaţi, lipide, colesterol, esteri de colesterol, acid L-ascorbic*. Aceste substanţe apar în cantitate crescută în citoplasma celulelor tecale ale corpilor luteali ciclici, corespunzători fazei de metestrus.

Evidenţierea funcţiilor carboxil, colesterolului şi esterilor de colesterol, acidului L-ascorbic în citoplasma celulelor tecale, demonstrează steroidogeneza în aceste celule. Într-adevăr acetatul activ reprezintă prima etapă în steroidogeneză, iar colesterolul şi esterii acestuia sunt etape intermediare ale acestui proces, care se desfăşoară la nivel ridicat în celulele tecale în fazele de proestrus şi estrus la suine.

Prezenţa acidului L-ascorbic în citoplasma celulelor tecale, indică intervenţia sa în steroidogeneză, prin catalizarea reacţiei la trecerea *progesteronei* în *17-hidroxiprogesteronă*, sub acţiunea C_{21} *steroid 17-hidroxilazei*.

În concluzie, foliculogeneza şi formarea foliculilor primordiali, primari, secundari şi terţiari la mamifere pot fi sistematizate în fig. 1.21 ; 1.22 (Liebich şi colab., 1999).

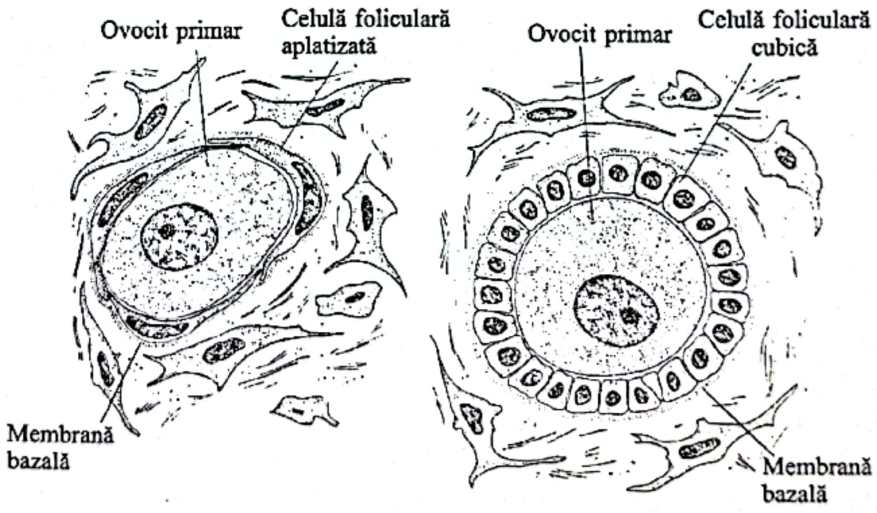


Fig. 1.21. ***Folicul primordial şi folicul primar în ovar*** *(Liebich şi colab., 1999).*

Scanned with OKEN Scanner

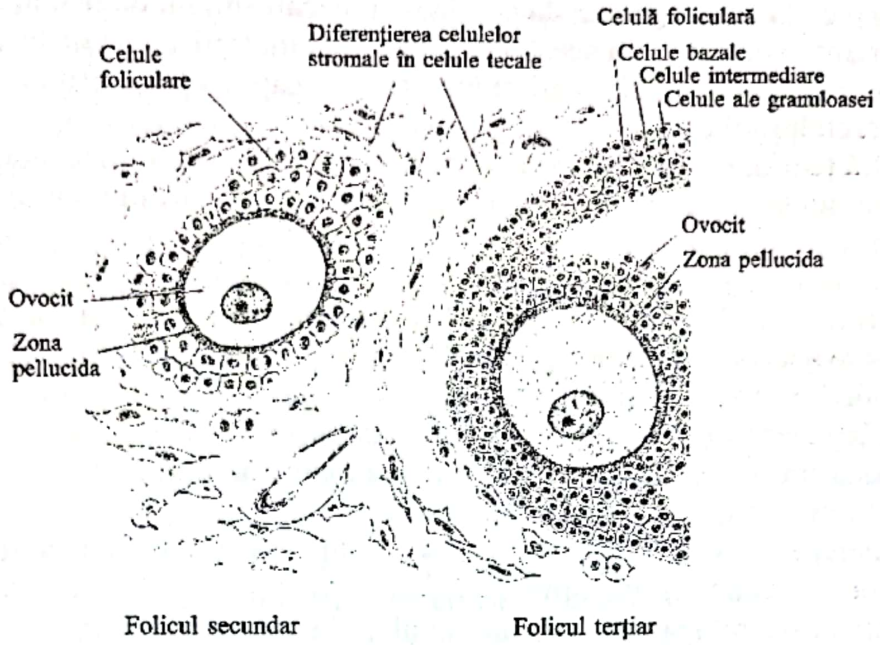


Fig. 1.22. ***Folicul secundar şi folicul terţiar ; diferenţierea celulelor stromale în celule tecale (teaca internă)*** *(Liebich, 1999).*

1.2.2.3. Ovulaţia

Ovulaţia reprezintă procesul fiziologic de eliminare a *ovocitului de ordinul II* prin dehiscenţa folliculară urmată de captarea lui în pavilionul trompei (fig. 1.23). În urma ovulaţiei, ovocitul de ordinul II este eliminat din foliculul dehiscent fiind înconjurat de celule foliculare ale coronei radiate şi însoţit de o cantitate apreciabilă de lichid folicular.

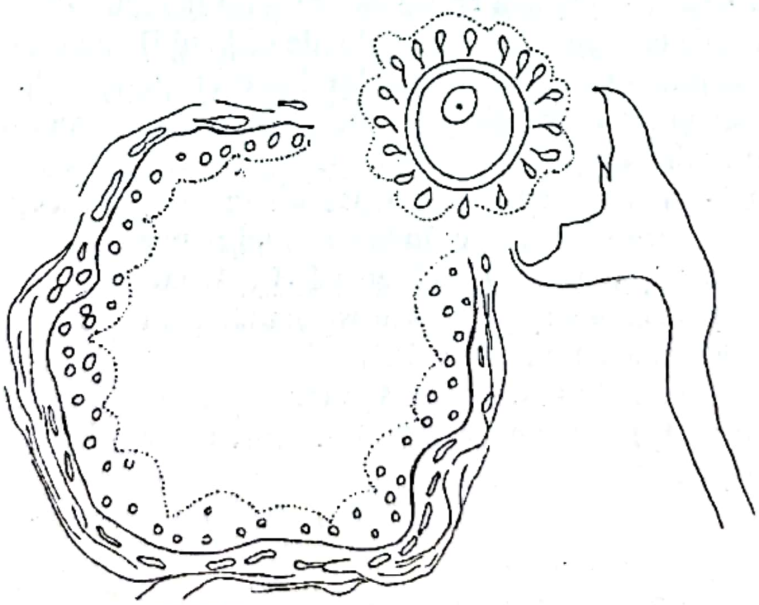


Fig. 1.23. ***Dehiscenţa folliculară la scroafă.***

Scanned with OKEN Scanner

Teoriile clasice cu privire la explicarea mecanismului de ovulaţie, atribuiau un rol important în declanşarea acestui fenomen, acumulării subite de lichid folicular care măreşte presiunea intrafoliculară şi modificările capilarelor sanguine care slăbesc rezistenţa peretelui folicular.

O altă teorie, dar căreia i s-a acordat multă atenţie în ultimii ani, reprezintă ideea că foliculul se rupe când ţesutul muscular neted din jurul foliculului începe să se contracte.

În prezent, acestor factori li se recunoaşte numai un rol secundar. Pe baza cercetărilor recente de histochimie, biochimie şi microscopie electronică, se consideră că ovulaţia are loc pe baza unor mecanisme predominant enzimatice, endocrino-dependente de hormonii gonadotropi.

Ovulaţia este un fenomen complex în care procesele de integrare şi reglare nervoasă joacă un rol fundamental. Acest fenomen este dominat de interactivarea coordonată dintre SNC şi sistemul endocrin.

Sistemul de reglare şi control al ovulaţiei este supraetajat, autoreglabil pe axa *cortex-hipotalamus-hipofiză-ovar.*

Centrii care reglează fenomenul ovulaţiei sunt situaţi în *hipotalamus.*

Durata ovulaţiei este dependentă de raportul cantitativ şi în timp între hormonii *FSH* şi *LH*. Valul de LH stimulează celulele foliculare pentru producerea de prostaglandine - $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) şi E_2 (PGE_2), inducând eliberarea colagenazelor.

În procesul ovulaţiei se disting două etape :

– dehiscenţa foliculară, ca urmare a ruperii peretelui folicular la nivelul stigmei ;

– expulzarea ovocitului II împreună cu o cantitate de lichid folicular şi la unele specii împreună cu *"corona radiata".*

În perioada preovulatorie, la nivelul foliculului dehiscent au loc o serie de procese de ordin morfofiziologic, biochimic, enzimatic, etc.

Fenomenul ovulaţiei a încercat să fie explicat prin mai multe teorii :

a) Teoria endosmozei - explică creşterea presiunii lichidului folicular, ca factor mecanic ce contribuie la expulzarea ovocitului de ordinul II ; în pregătirea ovulaţiei intervine activ sistemul vascular ovarian. Are loc o creştere evidentă a circulaţiei intraovariene, asociată cu hiperemie, creşterea permeabilităţii vasculare foliculare, apariţia unui edem folicular.

b) Teoria enzimatică - recunoaşte o depolimerizare a glicoproteinelor prin *hialuroniatliază (hialuronidază),* alterându-se astfel peretele folicular, sincronă cu intervenţia colagenazei produse sub influenţa LH . Această enzimă este indusă de către celulele foliculare care sintetizează prostaglandinele $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) şi E_2 (PGE_2). Colagenaza este secretată sub impulsul $PGF_{2\alpha}$.

De asemenea, valul de FSH stimulează granuloasa, celulele acesteia eliberând o altă enzimă proteolitică *«plasminogen activator»,* care contribuie la slăbirea peretelui folicular şi ruperea acestuia.

Enzimele sunt secretate activ în jurul unor anumite zone, *«puncte de ovulaţie»* sau *«stigmă».*

Înainte de ovulaţie, straturile epiteliale şi fibroelastice ale foliculului ca şi membrana bazală a acestuia suferă un proces de disoluţie, astfel că în momentul ovulaţiei la nivelul stigmei mai persistă un singur strat de celule ale granuloasei.

Scanned with OKEN Scanner

c) Teoria hormonală. În inducerea modificărilor morfologice un rol important îl au hormonii gonadotropi :

- sub influenţa FSH are loc evoluţia foliculilor ovarieni ;
- foliculii ovarieni cavitari secretă estrogeni (β-estradiol) ;
- prin acţiunea sinergică a FSH-LH hipofizar, foliculii ovarieni devin maturi ;
- creşterea raportului LH/FSH de aproximativ 10 ori induce ovulaţia.

Faptul că ovulaţia se produce numai dacă există un anumit raport între FSH/LH (1/10), demonstrează că factorul neuroendocrin reprezintă principala cauză a ovulaţiei.

În sprijinul acestei afirmaţii vin cercetările de morfologie, privind citologia adenohipofizei la suinele femele din rasa Landrace în fazele ciclului sexual. Astfel, procentul de participare al celulelor γ-LH în populaţia cromofilă a adenohipofizei scroafelor Landrace în estrus, în vârstă de 150-280 zile este de 24-36%. Dintre acestea 45,8-57,2% manifestă funcţie maximă (degranulare totală) ceea ce sugerează elaborarea la un nivel ridicat a LH-ului pentru a provoca ovulaţia.

La vacile Holstein în estrus, se constată în populaţia celulară cromofilă a adenohipofizei 29% celule γ-LH, cu prezenţa unei funcţii maxime (degranulare totală) la 46,5-58% din celule.

Sub acţiunea LH-lui are loc depolimerizarea enzimatică a acidului hialuronic şi condroitinsulfuric, existenţi în cimentul periovocitar, în lichidul folicular şi în tecile foliculului. Enzimele proteolitice sunt secretate în ţesutul ovarian, astfel că prin acţiunea lor slăbeşte ţesutul de legătură din peretele foliculului în regiunea *stigmei*, cauzându-i ruptura şi permiţând ovocitului să fie eliberat. În momentul eliberării ovocitului de ordinul II din folicul, franjurile pavilionului oviductului se aplică pe ovar şi printr-un proces de aspirare este favorizată trecerea ovocitului în lumenul oviductului. În treimea superioară a oviductului, ovocitul urmează să fie fecundat. În acest moment se produce cea de a doua diviziune de maturaţie *(ecuaţională)*, din ovocitul II rezultând *ovulul* (gametul femel) şi al *doilea globul polar.*

Marea majoritate a foliculilor sunt într-o creştere continuă, dar numai un număr redus din această populaţie ajunge în faza de folicul matur. Fenomenul se datorează controlului pe care îl exercită proteinele celulelor granuloasei care există în lichidul folicular în concentraţii diferite. Astfel, se presupune că ar exista un *«inhibitor al maturării ovocitului»* prezent mai ales în foliculii cavitari.

La nivelul foliculului matur există substanţe inhibitoare a secreţiei de FSH denumite *«inhibine»* sau *«foliculostatine»* a căror valoare creşte foarte mult la începutul estrului inhibând FSH şi permiţând apariţia vârfului de LH, urmat de ovulaţie.

1.2.3. Ovulul la mamifere

Ovulul este gametul sexual femel, *celulă haploidă* cu *„n"* cromozomi ce se formează în ovar prin procesul de ovogeneză. Odată cu instalarea pubertăţii la animalele femele, foliculii ovarieni cresc şi ajung în faza de *foliculi dehiscenţi*, când se eliberează *ovocitul de ordinul II.* Acesta suferă o diviziune ecuaţională în treimea superioară a oviductului din care rezultă *ovulul* şi al *doilea globul polar.* Ovulul este o celulă sferică de dimensiuni mari *(150-200 μm)* şi lipsită de mobilitate proprie. Nucleul este veziculos, nucleolat, cu dimensiunea mare *(30-40 μm)*, localizat puţin

excentric şi cu cromatina fin granulară. Citoplasma (*ovoplasma*) în coloraţia HE este acidofilă şi fin granulară. Prin coloraţii pe secţiuni la ghiaţă cu Sudan III sau IV, se evidenţiază numeroase picături de lipide, iar prin coloraţia PAS se remarcă proteoglicani. Aceste substanţe constituie vitelusul nutritiv care în raport cu vitelusul de la păsări, este în cantitate mică şi de aceea ovulul la mamifere este de tip *oligolecit (izolecit* sau *homolecit)*. Membrana vitelină *(oolema)* delimitează la exterior ovulul. Exterior acestei membrane, există o a doua membrană groasă, bogată în proteoglicani (PAS-pozitivă) care se numeşte *zona pellucida* (fig. 1.24). La MO are un aspect striat. Nucleul ovulului mai poartă denumirea de *veziculă germinativă,* iar nucleolul, de *pată germinativă*. În ovoplasmă, ca organite se evidenţiază aparatul Golgi, care la MO apare ca zone întinse şi închise la culoare ce se numesc *dictiozomi*. Mitocondriile sunt sub formă de granule răspândite mai ales spre periferia ovoplasmei. La exteriorul membranei pelucide se remarcă numeroase celule foliculare cu aspect de măciucă care sunt dispuse sub formă de coroană, legate între ele printr-o substanţă intercelulară formată din *acid hialuronic*.

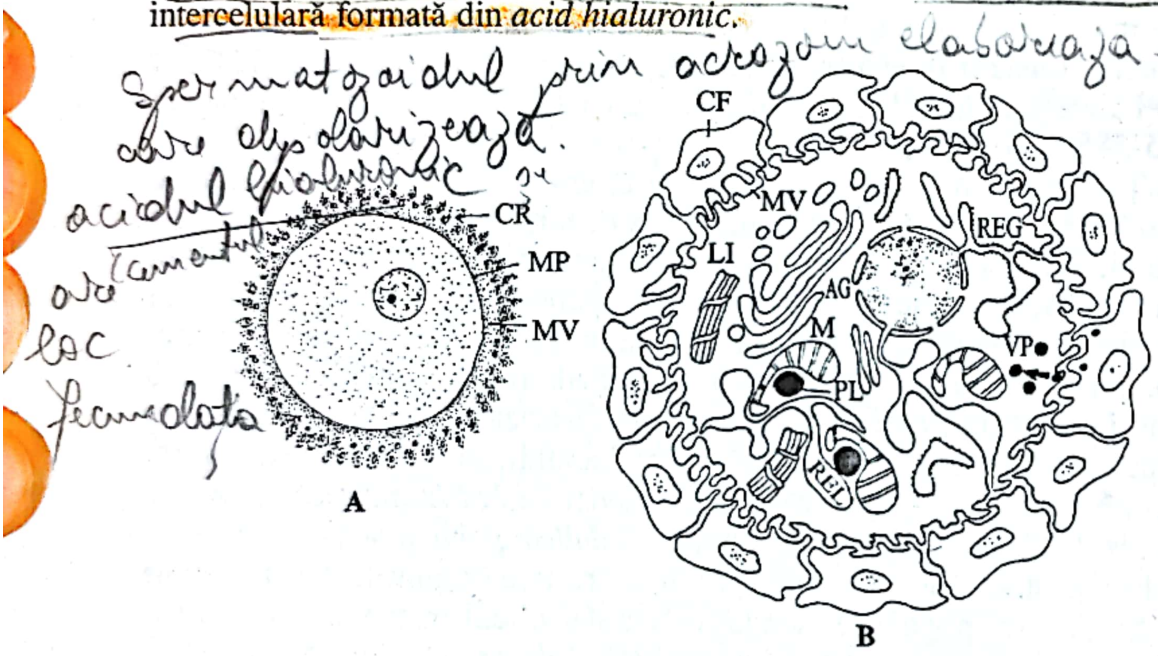


Fig. 1.24. ***Ovulul oligolecit de mamifer*** : A. La MO : CR-corona radiata ; MP-zona pelucida ; MV-membrana vitelină ; B. La ME : CF-celule foliculare cu microvili ; MV-membrana vitelină ; AG-aparatul Golgi ; M-mitocondrii cu glugă ; PL-picături de lipide ; REL-reticul endoplasmic lax ; REG-reticul endoplasmic granular ; VP-vezicule pinocitare ; LI-lamele inelate.

Această substanţă intercelulară se mai numeşte *cement,* prin intermediul căruia celulele foliculare sunt strâns unite între ele într-un strat compact. Ovocitul la ME a fost descris la taurine de Flaming (1972), cercetător care a adus aspecte noi în morfologia gametului sexual femel la această specie. Aspectul striat la MO a membranei pelucide este dat la ME de numeroasele microvilozităţi ale membranei viteline şi membranelor celulelor foliculare din corona radiata. Între aceste microvilozităţi se realizează joncţiuni celulare de tipul *zonulei adherens*. Oolema prezintă microvili care în unele cazuri înconjoară prelungirile celulelor foliculare. La nivelul membranei viteline au fost observate vezicule pinocitare, care demonstrează

Scanned with OKEN Scanner

schimbul de substanţe dintre celulele coronei radiata şi ovul. În ovoplasma periferică s-au observat numeroase vezicule delimitate de membrană, ce conţin cantităţi variabile de material intens colorat. Aceste vezicule se numesc *granule corticale,* de care se debarasează ovulul imediat după fecundare, acesta fiind un indiciu al fertilizării ovulului. Aparatul Golgi este localizat perinuclear şi periferic, adaptat funcţional pentru concentrarea substanţelor de rezervă (*vitelus*). Mitocondriile sunt numeroase, cu aspect caracteristic *„cu glugă"* în apropierea cărora se remarcă un reticul endoplasmic agranular cu elemente dispuse în mod lax, de unde şi denumirea de *reticul endoplasmic lax.* Ribozomii sunt dispuşi liberi sau ataşaţi pe pereţii reticulului endoplasmic. De asemenea au fost observaţi numeroşi lizozomi primari şi corpi multiveziculari, urmare a pinocitozei intense întâlnită la oolema ovulului. În ovoplasmă s-au mai remarcat formaţiuni caracteristice numite *lamele inelate,* care se aseamănă foarte mult cu aspectul ultrastructural al membranei nucleare. Acestea apar ca membrane perechi care la anumite intervale se unesc pentru a forma pori similari cu cei ai membranei nucleare.

Aceleaşi aspecte la ME se remarcă şi la ovocitul de scroafă (fig. 1.25).

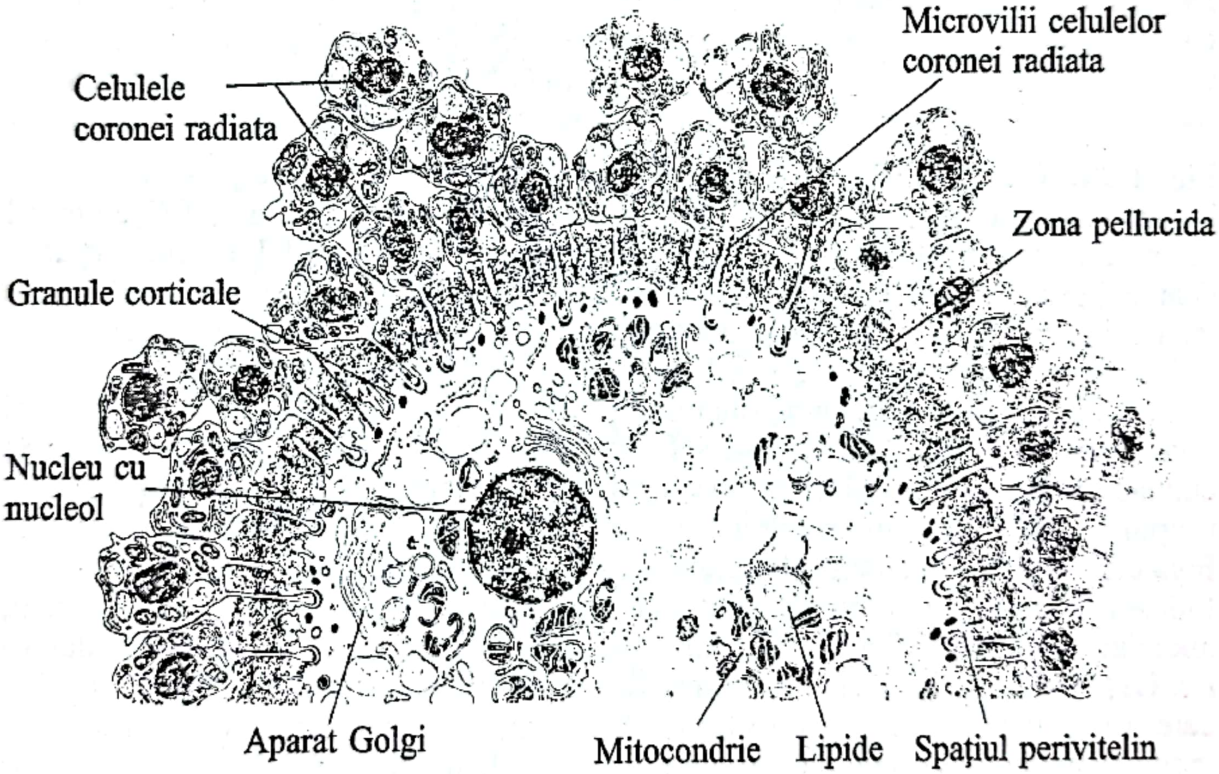


Fig. 1.25. ***Ultrastructura ovocitului de scroafă*** *(Liebich şi colab., 1999).*

1.3. Foliculogeneza şi ovogeneza la păsări

În mod asemănător cu cele prezentate la mamifere, ovogeneza şi la păsări înseamnă formarea *ovulelor* (şi nu formarea oului). Astfel, există şi la păsări cele trei perioade de *proliferare* a ovogoniilor, de *creştere* şi de *maturare* a ovocitului. Ovogoniile în ovarul embrionului de găină se dezvoltă şi se multiplică la jumătatea

Scanned with OKEN Scanner

perioadei de incubaţie. În continuare are loc transformarea ovogoniilor în ovocite primare. Acestea se înconjoară de celule foliculare şi de o teacă conjunctivă subţire, structurând *foliculii primordiali* (fig. 1.26).

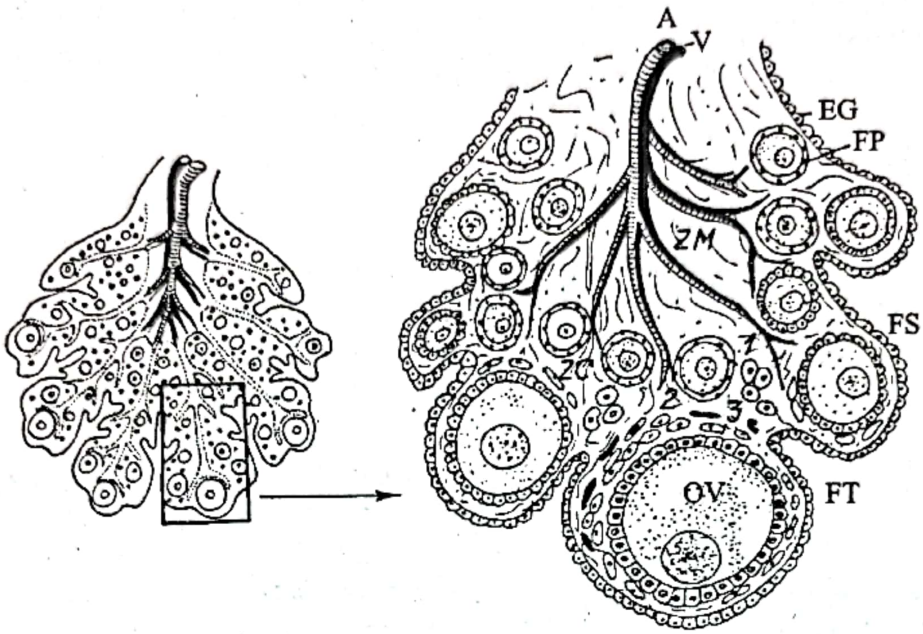


Fig. 1.26. ***Structura histologică a ovarului de găină în vârstă de şase luni*** : ZC-zona corticală ; ZM-zona medulară ; A-artera ; V-vena ; EG-epiteliul germinativ ; FP-folicul primordial ; FS-folicul secundar ; FT-folicul terţiar ; Glanda interstiţială din ovarul de găină (1-celule interstiţiale stromale – CIS ; 2-celule interstiţiale tecale clare – CITC ; 3-celule interstiţiale tecale întunecate – CITI).

Creşterea şi maturarea foliculilor *primordiali* în foliculi *secundari şi terţiari* (ovulatori) are loc sub influenţa FSH-ului şi acesta este controlat de FSH-RH. Se cunoaşte rolul iluminatului în mecanismul de elaborare a FSH-RH la păsări. În timpul acestor transformări are loc în interiorul foliculului şi maturarea ovocitului. Foliculii terţiari (ovulatori) suferă fenomenul de ovulaţie, punând în libertate *ovocitul* (*gălbenuşul*) care în primul segment al oviductului devine ovul apt de a fi fecundat, apoi datorită elaborării a noi structuri în segmentele următoare a oviductului devine *ou*. La pubertate cele mai evidente structuri la suprafaţa ovarului sunt *foliculii terţiari* care ating dimensiunea de 40 mm în diametru, coloraţi în galben şi cu un plex vascular evident şi vizibil la suprafaţă. Aceşti foliculi sunt ataşaţi prin pediculi de masa principală a ovarului. O parte din foliculi sunt de dimensiuni mai mici (2-10 mm) coloraţi în crem ; aceştia sunt foliculii pe cale de creştere (*secundari*). Toate ovocitele din ovarul de pasăre până la pubertate sunt *ovocite primare*. Înaintea ovulaţiei, acestea eliberează primul globul polar şi devin *ovocite secundare*. Ovocitul constă dintr-un nucleu localizat central numit *veziculă germinativă* ce conţine 1-2 nucleoli şi o cromatină difuză. Ovoplasma este uniform granulară în toate ovocitele cu dimensiunea peste 20 mm. Ataşat veziculei germinative apare o masă granulară *(corpul lui Balbiani)* care constă din sferule galbene, mitocondrii şi complex Golgi. Pe măsură ce ovocitul se dezvoltă, corpul Balbiani se sparge şi se împrăştie uniform

Scanned with OKEN Scanner

în ovoplasmă. Odată cu formarea foliculului secundar şi apoi a celui terţiar, ovocitul devine de *ordinul II* şi acumulează cantităţi crescute de vitelus nutritiv care are un bogat conţinut în lipide, protide, glucide, săruri minerale, vitamine, pigmenţi. Există două feluri de vitelus nutritiv : *vitelus alb* şi *galben* (cu un conţinut mai bogat în carotenoide). Depunerea începe cu un strat de vitelus alb, care reprezintă viitoarea *latebră Purkinje,* apoi urmează cel galben în aşa fel încât aceste două tipuri de vitelus se depun în straturi concentrice. La periferia vitelusului se diferenţiază o membrană vitelină. Deoarece cantitatea de vitelus nutritiv este foarte mare comparativ cu citoplasma formativă, ovulul de pasăre (gălbenuşul) face parte din grupa *ovulelor telolecite.*

Pentru o mai bună înţelegere a foliculogenezei, care are loc în ovarul de pasăre la pubertate, se va descrie în extenso *foliculul terţiar.*

1.3.1. Foliculul terţiar (ovulator)

Acesta proiemină la suprafaţa ovarului, are o culoare galbenă şi este ataşat ovarului printr-un pedicul. Datorită existenţei mai multor foliculi pediculaţi, ovarul capătă aspectul unui ciorchine de strugure. La suprafaţa foliculului matur se evidenţiază epiteliul germinativ aplatizat sub care ţesutul conjunctiv stromal este slab reprezentat. În regiunea centrală a foliculului, opus pediculului se evidenţiază o zonă mai puţin vascularizată decât restul peretelui folicular, numită *stigma,* ce reprezintă locul pe unde se va produce ovulaţia. Foliculul matur este format din *ovocit, zona radiata, membrana perivitelină, granuloasa, membrana bazală, teaca internă şi teaca externă* (fig. 1.27).

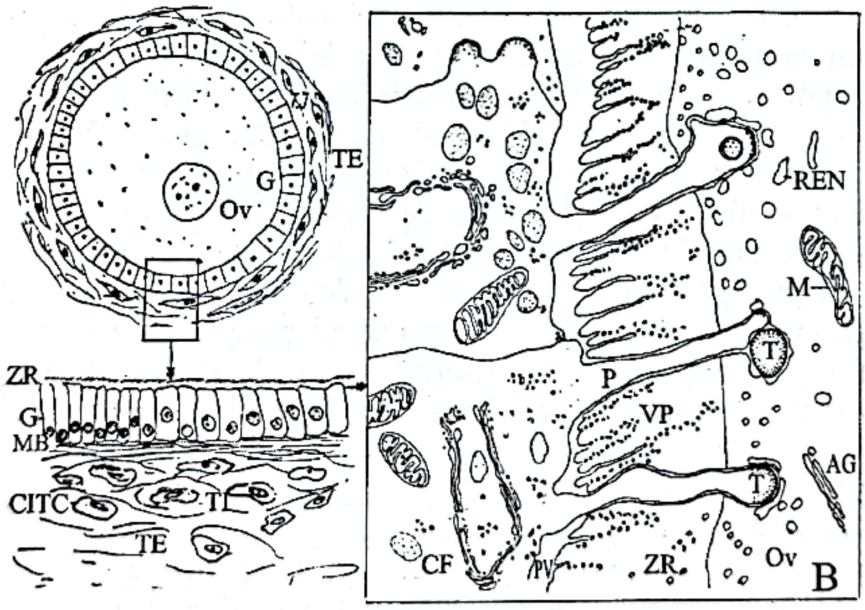


Fig. 1.27. ***Structura foliculului terţiar (ovulator) din ovarul de găină (B-detaliu)*** : Ov-ovocit de ordinul II ; ZR-zona radiata ; G-granuloasa ; MB-membrana bazală ; TI-teaca internă ; CITC-celule interstiţiale tecale clare ; TE-teaca externă. Relaţiile celulelor foliculare ale granuloasei cu ovocitul II la ME : CF-celule foliculare ; P-procese (prelungiri) ; T-transosomi ; PV-membrana perivitelină ; ZR-zona radiata ; VP-vezicule pinocitare (fazele pinocitozei) ; Ov-ovocit II ; REN-reticul endoplasmic neted ; M-mitocondrii ; AG-aparat Golgi.

Scanned with OKEN Scanner

Ovocitul are dimensiunea de 1,5-3,5 cm în diametru şi este închis în foliculul matur pediculat. Central, se evidenţiază *vezicula germinativă* care după ovulaţie migrează la un pol şi structurează împreună cu citoplasma formativă *discul germinativ*, cu dimensiunea de 3-4 mm. Ovoplasma este formată din vitelus alb (granule mici cu compoziţie predominant proteică 43 %) şi *vitelus galben* (granule mari constituite în principal din lipide, proteinele intră în proporţie de 28 %) care sunt aşezate în straturi concentrice. Vitelusul este elaborat de celulele foliculare ale granuloasei. La exterior, ovocitul este delimitat de membrana vitelină.

Zona radiata apare la MO striată datorită numeroaselor procese (*microvili*) vizibile la ME date de membrana vitelină a ovocitului şi de celulele foliculare ale granuloasei. Această zonă începe să se formeze înainte ca ovocitul să atingă dimensiunea de 1 mm în diametru. Pe măsură ce ovocitul se dezvoltă în cadrul foliculului, zona radiata devine mai evidentă şi la ME se observă numeroase prelungiri ale celulelor granuloasei şi vezicule pinocitare. Prin aceste vezicule pinocitare, ce conţin cantităţi crescute de lipide şi proteine, ovocitul se dezvoltă şi acumulează cantităţi crescute de vitelus. Un rol important îl au şi prelungirile celulelor foliculare ale granuloasei care se termină în invaginările membranei viteline a ovocitului, structurând la acest nivel *transosomii*. Aceştia conţin cantităţi crescute de material nutritiv elaborat de celulele foliculare care, în acest mod ajung în ovocit, contribuind la formarea şi structurarea vitelusului alb şi galben, deci a gălbenuşului sub formă de granule.

Membrana perivitelină este un strat acelular, cu structură fibrilară fină, elaborat de celulele granuloasei şi care începe să se formeze când ovocitul atinge dimensiunea de 2-3 mm în diametru.

Granuloasa este un strat de celule în imediata vecinătate a ovocitului. Grosimea acestui epiteliu se corelează cu stadiile de creştere ale ovocitului. Astfel, când ovocitul are dimensiunea sub 0,4 mm, celulele granuloasei sunt cubice în timp ce la ovocitul cu dimensiunea de 0,4-4 mm devin prismatice înalte. Nucleii celulelor sunt mari, sferici şi conţin numeroase granule de cromatină, iar citoplasma conţine numeroase picături de lipide şi granule proteice, ce reprezintă precursorii gălbenuşului. Acest material nutritiv este condus la ovocit prin *transosomi* sau este preluat de acesta prin pinocitoză. Acestea sunt demonstrate la ME prin prezenţa numeroaselor prelungiri ale celulelor foliculare ce ating suprafaţa membranei viteline structurând la nivelul contactului, mici umflături pline cu substanţe nutritive *(transosomi)*.

Membrana bazală este foarte subţire de 1 μm grosime, structurată după tipul membranelor bazale ale epiteliilor şi separă celulele foliculare ale granuloasei de cele ale tecii interne.

Teaca internă este formată din *celule interstiţiale tecale clare* (CITC) de aspect poligonal sau ovalar, organizate în cuiburi şi polarizate la capilarele sanguine, foarte numeroase în regiune. Citoplasma lor conţine cantităţi crescute de: *lipide, colesterol, esteri de colesterol, acid L-ascorbic* şi *glicoproteine*. Aceste celule secretă hormoni steroizi sexuali, steroidogeneza atingând un maximum la vârsta de 180 zile (Cotea, 1976). La exteriorul acestor grupuri de celule se evidenţiază *celulele interstiţiale tecale închise* la culoare (CITI) ce conţin ca incluzii în citoplasmă numai proteoglicani. Aceste celule nu sunt implicate în steroidogeneză (Cotea, 1977). Există o corelaţie pozitivă între dezvoltarea glandei tecale şi mărimea foliculilor ovarieni.

Scanned with OKEN Scanner

Teaca externă este formată dintr-un ţesut conjunctiv fibros cu numeroase fibre de colagen şi elastice dispuse paralel în jurul foliculului. Aceste fibre de colagen sunt mai groase şi mai evidente în vecinătatea tecii interne. Printre fibrele conjunctive se observă numeroase fibroblaste alungite şi aplatizate. Dahl (1970), a demonstrat prezenţa fibrelor musculare netede în teaca externă a foliculilor la pasăre. Aceste fibre musculare sunt mai numeroase şi mai dezvoltate în regiunea pediculului folicular, mai rare şi subţiri spre stigmă. Teaca externă se pierde în ţesutul înconjurător al stratului cortical al ovarului.

1.3.1.1. Ovulaţia

Ovulaţia la păsări este un proces declanşat şi reglat pe cale neuroendocrină. Declanşarea ovulaţiei (*dehiscenţa foliculară*) se face sub influenţa LH-ului elaborat de adenohipofiză şi acesta este controlat de hormonul hipotalamic LH-RH.

Aspectele de endocrinologie la păsări, reprezintă baza explicării ştiinţifice a creşterii numărului de ovulaţii, deci a producţiei de ouă prin mărirea artificială a duratei iluminatului în adăposturile de păsări. Ovulaţia, ruperea peretelui folicular are loc în zona ecuatorială a stigmei, în acest mod *ovocitul II (gălbenuşul)* este eliberat şi în 3-5 minute este captat de pavilionul oviductului. Foliculul ovulat are aspectul unei membrane golită de conţinut care prin celulele granuloasei şi tecii interne îşi continuă activitatea endocrină de elaborare a progesteronului.

1.3.2. Foliculii atretici

Atrezia foliculilor în ovarul păsărilor este un proces normal. Nu toate ovocitele ajung la maturitate pentru a fi ovulate, ci numai o mică parte din ele. Nu toţi foliculii primordiali vor creşte şi vor evolua spre foliculi terţiari, ci o mare parte suferă fenomenul de *atrezie folliculară*. Uneori acest fenomen se întâlneşte şi la stadiile de foliculi secundari şi terţiari. La două zile după ecloziune, numărul foliculilor primordiali din ovarul puicuţelor din rasa Leghorn este de *4 milioane*. La pubertate scade până la *1-4000 foliculi primordiali,* din care cel mult *1/3 devin foliculi terţiari* care vor ovula. Dool (1965) a descris trei tipuri de atrezie a foliculilor în ovarul de pasăre. *Prima* şi cea mai comună apare în *foliculii de până la 500 μm* în diametru şi constă în proliferarea celulelor granuloasei, care se dispun în straturi numeroase în jurul ovocitului. Ovocitul suferă fenomenul de necrobioză, apoi dispare rezultând o masă celulară heterogenă. În final această masă se hialinizează şi se transformă într-un ţesut conjunctiv cicatriceal. *A doua* şi cea mai frecventă, întâlnită mai ales la păsările în vârstă, constă în proliferarea celulelor granuloasei şi a celulelor tecale care în final împreună cu ovocitul vor suferi *degenerescenţa lipidică*. *A treia,* survine la păsările tinere, mai ales la foliculii de peste 1,5 mm în diametru. La aceşti foliculi, granuloasa rămâne intactă, în timp ce teaca internă se hipertrofiază. Celulele tecale devin foarte active conţinând cantităţi crescute de incluzii implicate în steroidogeneză.

Scanned with OKEN Scanner

1.3.3. Foliculii postovulatori

Imediat după ovulaţie, foliculul se micşorează, pereţii devin plisaţi şi mai groşi datorită concentrării celulelor din teaca internă şi granuloasă. Acestea acumulează cantităţi crescute de lipide şi datorită faptului că în ele a fost demonstrată prezenţa *hidroxisteroiddehidrogenazei*, li se atribuie rolul de a elabora progesteron. Astfel, se poate afirma că ar fi similare celulelor corpului luteal la mamifere.

1.3.4. Formarea oului în oviduct

După eliberarea ovocitului II din *foliculul terţiar* (ovulator), nucleul celulei care mai poartă denumirea şi de *veziculă germinativă*, migrează la suprafaţa gălbenuşului şi se localizează în citoplasma periferică *formativă* structurând cu aceasta *discul germinativ*, ce ocupă o foarte mică întindere, 3-4 mm. Restul ovocitului II este constituit din vitelus care predomină ca întindere şi care este de două feluri: *alb* şi *galben*. După ovulaţie, ovocitul II este captat în *infundibulum*, unde are loc a doua diviziune de maturare (*meioza II*) ce conduce la formarea *ovulului* şi celui de al *doilea globul polar*.

Vitelusul alb formează un strat subţire la periferia gălbenuşului şi se leagă de centrul acestuia printr-o prelungire cu aspect de limbă de clopot, aşezat imediat sub discul germinativ şi care poartă denumirea de *latebra Purkinje*.

Între stratul periferic şi latebră se găsesc straturi concentrice, dispuse alternativ, de *vitelus alb* (*straturi subţiri*) şi de *vitelus galben* (*straturi groase*).

Vitelusul galben este format din *granule viteline mari*, constituite în special din lipide; proteinele sunt mai puţin abundente (28 %), iar *vitelusul alb* este constituit din *granule mici* cu compoziţie chimică predominant proteică (43 %).

La periferie se află o membrană foarte fină, *membrana vitelină* sau *oolema*.

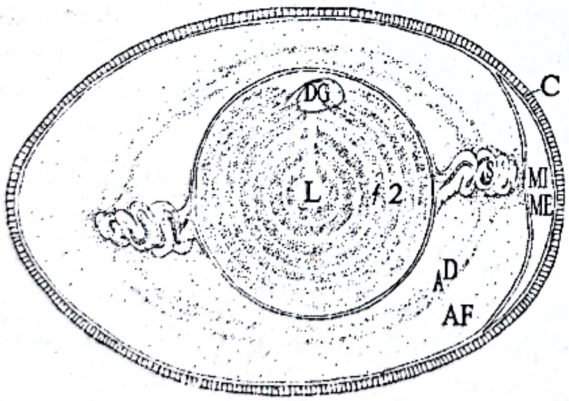


Fig. 1.28. ***Oul de găină*** : DG-discul germinativ ; L-latebra Purkinje ; 1-vitelus alb ; 2-vitelus galben ; AD-albuş dens ; AF-albuş fluid ; S-şalaze ; MI-membrana cochilieră internă ; ME-membrana cochilieră externă ; C-coaja.

Ovulul (gălbenuşul la pasăre) va fi descris în cadrul oului nefecundat de găină (fig. 1.28). Elementele care se suprapun ovulului descris mai sus, reprezintă produsul de secreţie de natură proteică a segmentelor oviductului la pasăre (fig. 1.29).

În primul rând albuşul (albumen) care ocupă o bună parte din ou este secretat de mucoasa porţiunii glandulare *magnum (camera albuminogenă)* a oviductului. Albuşul este cuprins între două membrane: membrana vitelină (oolema) şi cea cochilieră internă. Albuşul este traversat la ambele capete de nişte formaţiuni răsucite numite *şalaze*, formate din condensări de proteine sub formă de spirală, care leagă ovulul de membrana cochilieră la cei doi poli ai oului.

Scanned with OKEN Scanner

Musculoasa magnumului se organizează în benzi musculare paralele cu direcţie spiralată, ceea ce explică înaintarea oului în acest segment prin înşurubare, antrenând în acest mod secreţia de la suprafaţa epiteliului pentru formarea albuşului şi şalazelor. La această antrenare a secreţiei participă şi celulele ciliate intercalate printre cele secretoare ale epiteliului (fig. 1.30).

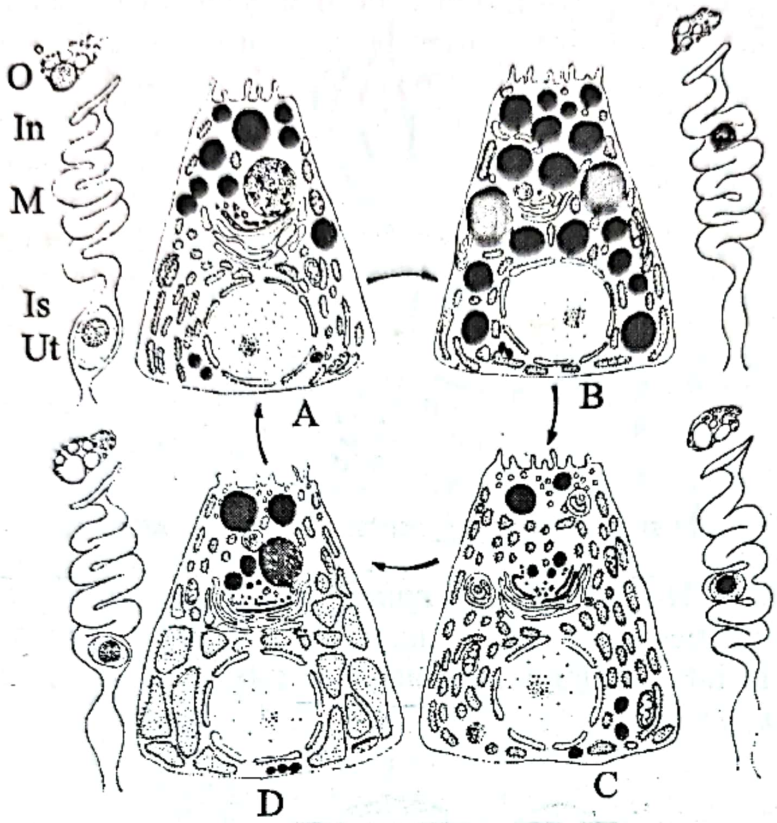


Fig. 1.29. ***Ciclul celular al celulelor secretoare din epiteliul glandular al mucoasei magnumului la ME, pentru elaborarea granulelor de ovalbumină în vederea formării albuşului.***
A-înaintea ovulaţiei ; B-în timpul trecerii oului prin treimea mijlocie a magnumului ; C- după trecerea oului de treimea mijlocie a magnumului ; D-când oul părăseşte porţiunea terminală a magnumului. O-ovar ; In-infundibulum ; M-magnum ; Is-istm ; Ut-uter.

Urmează membranele cochiliere internă şi externă, care sunt secretate de *istm*. Ele se despart la extremitatea obtuză a oului, delimitând un spaţiu numit *camera cu aer*.

Învelitoarea externă a oului (coaja) este secretată de *uter (camera cochilieră)* şi este formată din săruri de calciu şi magneziu. Coaja minerală a oului este alcătuită din trei straturi : un strat *mamelonar intern*, un strat *spongios mijlociu* şi un strat *calcaros extern*. Tot la nivelul uterului este secretată *cuticula* care acoperă la exterior coaja minerală. Cuticula conţine pigmenţi *(ovoporfirine)*, este permeabilă pentru gaze şi vapori şi are rol de a împiedica pătrunderea microorganismelor prin porii cojii. Desfăşurarea în timp a formării oului este următoarea : infundibulum – 15-30 minute unde se produce fecundaţia ; magnum – 3 ore ; istmus – o oră ; uterus – 19 ore ; vagina – 30-40 minute, în care se produce expulzarea (ponta) oului înafară prin proctodeum (fig. 1.31).

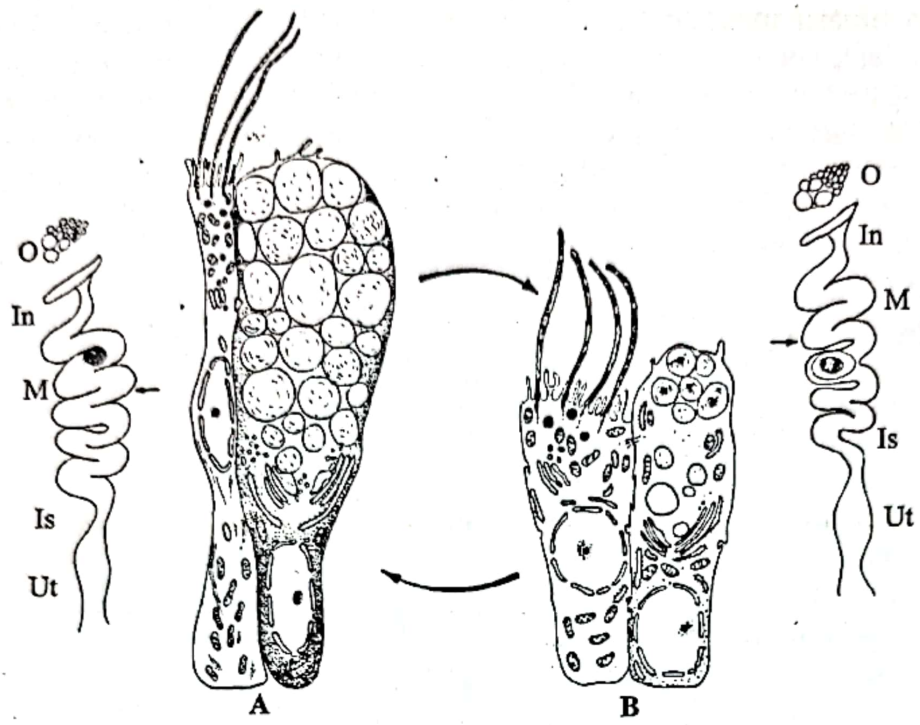


Fig. 1.30. ***Structura la ME a celulelor epiteliale de căptuşire din mucoasa magnumului.*** A-înaintea trecerii oului prin magnum ; B-după trecerea oului prin magnum ; O-ovar ; In-infundibulum ; M-magnum ; Is-istm ; Ut-uter.
După Sandoz şi colab., 1971

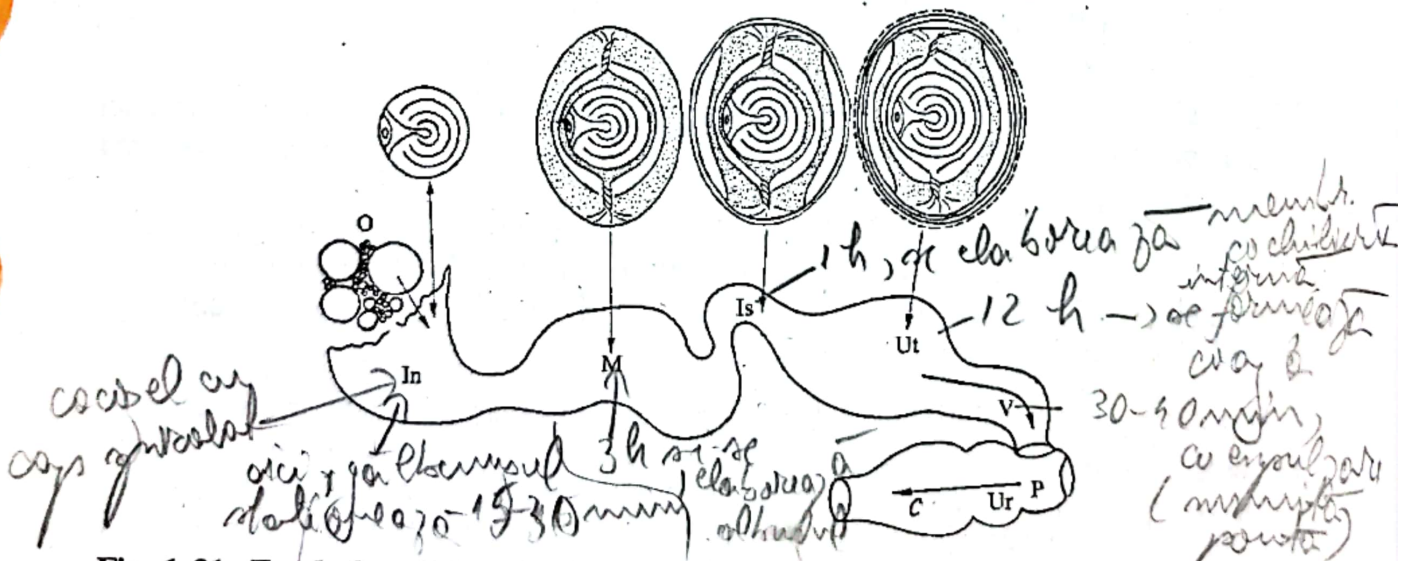


Fig. 1.31. ***Fazele formării oului în oviductul de găină***. O-ovar ; In-infundibulum ; M-magnum ; Is-istm ; Ut-uter ; V-vagin ; P-proctodeum ; Ur-urodeum ; C-coprodeum.

Din cele aproximativ 24 ore necesare formării oului, 19 ore se desfăşoară în uter, deoarece la acest nivel se formează coaja oului, proces care necesită o durată mai mare de timp.

Scanned with OKEN Scanner

2. FECUNDAŢIA

Fecundaţia este procesul fiziologic complex de asimilare reciprocă a celor doi gameţi sexuali (*ovulul* şi *spermatozoidul*) pentru a da naştere unei celule noi, numită *ou* sau *zigot*.

Fecundaţia depinde de o serie de factori ;

- integritatea morfologică a spermatozoizilor ;
- modul şi durata deplasării spermatozoizilor în căile genitale femele ;
- viabilitatea spermatozoizilor în tractusul genital femel ;
- maturarea şi capacitarea spermatozoizilor ;
- numărul de spermatozoizi necesar pentru fecundare ;
- momentul ovulaţiei şi migrarea ovulei ;
- viabilitatea ovulei şi stadiul său de fecundabilitate.

Un rol important în acest proces îl are maturarea şi capacitarea spermatozoizilor.

Spermatozoidul mamiferelor, migrat prin epididim şi ejaculat, nu poate fi apt pentru o fecundaţie normală decât după staţionarea, unui anumit timp în căile genitale femele (fig. 2.1). Schimbările ce se produc în aceste segmente desăvârşesc capacitatea fecundantă a celulei seminale şi sunt cunoscute sub denumirea de *capacitaţie*.

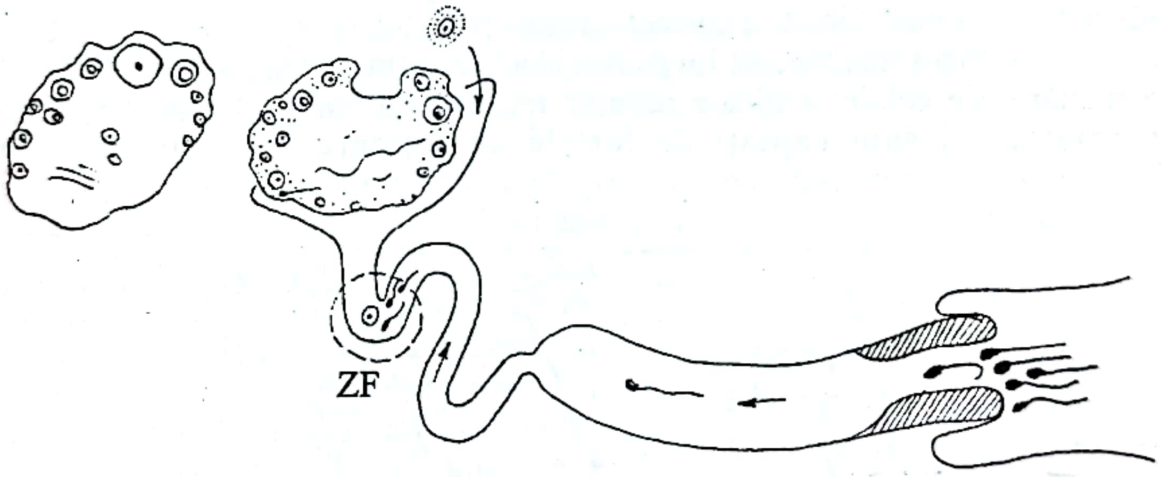


Fig. 2.1. ***Ovulaţia, inseminarea şi zona unde are loc fecundaţia (Z.F.).***

Capacitaţia se realizează numai în căile genitale femele, fiind dovedit faptul că în condiţii experimentale, spermatozoizii depuşi în cavitatea peritoneală nu sunt fecundanţi chiar dacă au acces la oviducte.

Specificitatea de specie nu este absolută. O capacitate (chiar parţială), poate fi obţinută prin staţionarea spermatozoizilor în căile genitale ale altei specii : spermatozoizii de taur la oaie, spermatozoizii de taur la scroafă, spermatozoizii de iepure la şobolancă, şoricioaică, hamster sau câine.

Capacitaţia este rapidă în apropierea momentului *ovulaţiei,* mai lentă în proestrus şi nu se produce în faza luteală.

Scanned with OKEN Scanner

În plasma seminală există un *factor de capacitare* (o glicoproteidă care este localizată în capsula proteică ce înconjoară spermatozoidul).

La majoritatea mamiferelor, capacitaţia are loc la sfârşitul estrului, iar la vacă la 10-14 ore în metestru. Ovocitul eliminat este captat de către pavilionul oviductului, se creează un flux descendent spre cavitatea tubară, iar ovocitul este antrenat de fluidul oviducal.

Mişcările cililor din epiteliul mucoasei tubare întreţin un curent de antrenare al lichidului din oviduct.

Durata capacitării este diferită de la specie la specie: la vacă 8-10 ore, la oaie 1-2 ore, la scroafă 3-5 ore.

2.1. Mecanismul fecundaţiei

Secvenţele succesive ce au loc în timpul unirii gameţilor constituie etapele fecundaţiei:

– ataşarea spermatozoidului capacitat şi interacţiunea cu zona pellucidă;
– încorporarea spermatozoidului şi modificările induse;
– formarea pronucleilor;
– singamia şi apariţia primului fus de clivaj.

Ataşarea spermatozoidului capacitat la suprafaţa zonei pellucida. La unele specii, vacă, oaie, capră, corona radiata este repede dispersată după ovulaţie şi spermatozoizii intră direct în contact cu zona pellucidă a ovocitului.

Trecerea spermatozoizilor prin oviducte este un proces programat, în funcţie de numărul de celule seminale necesar fecundaţiei. În funcţie de aceasta, unii spermatozoizi sunt captaţi de forţele de reţinere executate de ovocit. *Galactosyltransferaza* de la nivelul *membranei spermatice* asigură legătura cu *N-acetil-glucozamina (glicoproteina ZP_3)* de la nivelul zonei pelucide (fig. 2.2).

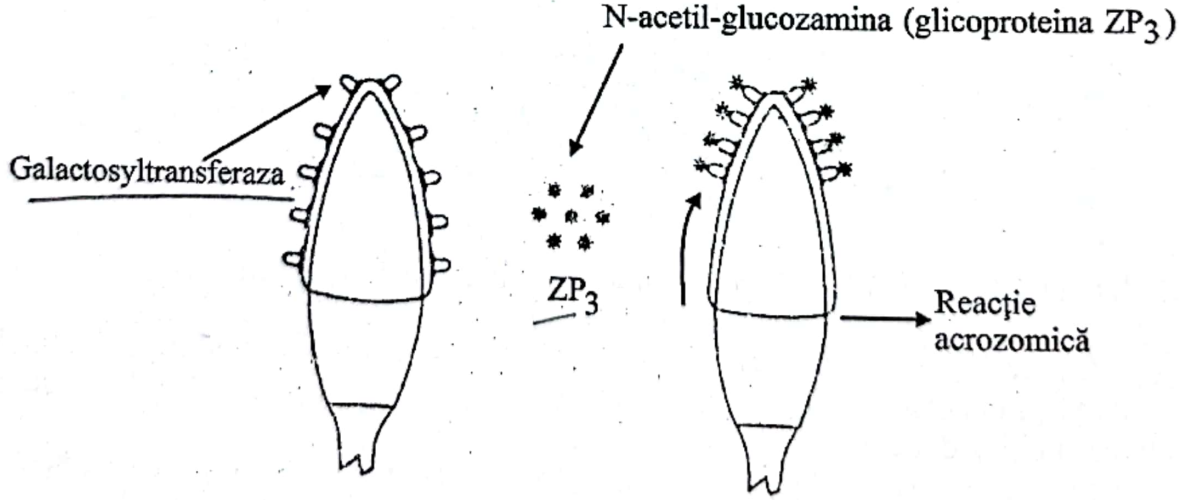


Fig. 2.2. ***Glicoproteina ZP_3 (N-acetil-glucozamina) din zona pellucida şi galactosyltransferaza din membrana spermatozoidului*** *(Thibault, 1991).*

Dezorganizarea celulelor foliculare din corona radiata este asigurată prin depolimerizarea acidului hialuronic ce fixează celulele foliculare în jurul ovocitului.

Scanned with OKEN Scanner

Această depolimerizare este produsă de *hialuronidaza (hialuroniatliaza)* elaborată de acrozomul spermatozoidului.

Ataşarea celor doi gameţi este posibilă, întrucât pe suprafaţa externă a zonei pellucide au fost identificaţi receptori de membrană, care se cuplează şi sunt activaţi de substanţele eliberate de spermatozoizi în cadrul procesului de capacitaţie.

Glicoproteinele zonei pellucide prezintă unele analogii de la specie la specie, fiind notate cu ZP_1, ZP_2 şi ZP_3, cu greutăţi moleculare diferite.

Ataşarea spermatozoidului de zona pellucida rezultă în urma unor legături între membrana plasmatică a spermatozoidului *(galactosyltransferază)* cu receptorii ZP_3 din zona pellucida (resturile de *N-acetil-glucozamina)* (fig. 2.3).

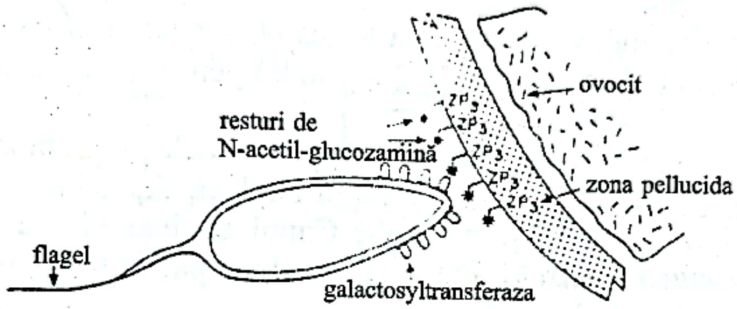


Fig. 2.3. ***Fixarea primară a spermatozoidului la zona pellucida. Galactosyltransferaza membranară a spermatozoidului asigură contactul cu reziduurile N-acetil-glucozamină a ZP_3,*** *(Thibault, 1991).*

ZP_3 este o glicoproteină (fig. 2.4).

Din punct de vedere imunologic, este dovedit faptul că anticorpii IgG pot împiedica ataşarea spermatozoizilor şi penetrarea de către aceştia a zonei pellucide. Autoanticorpii de pe suprafaţa membranei spermatozoidului sau de pe membrana internă a acrozomului pot fi implicaţi în recunoaşterea spermatozoid-ovocit. Este posibil, în acest caz, ca anticorpii să se cupleze cu moleculele receptoare de pe spermatozoid împiedicând astfel ataşarea. De asemenea, există posibilitatea producerii de anticorpi pentru zona pellucidă (o cauză potenţială a infecundităţii).

Încorporarea spermatozoidului şi modificările induse.

Spermatozoidul care a efectuat reacţia acrozomică, pe cale enzimatică realizează "*tuneluri*" în zona pellucida. Traversarea zonei pelucide durează în medie 5 minute.

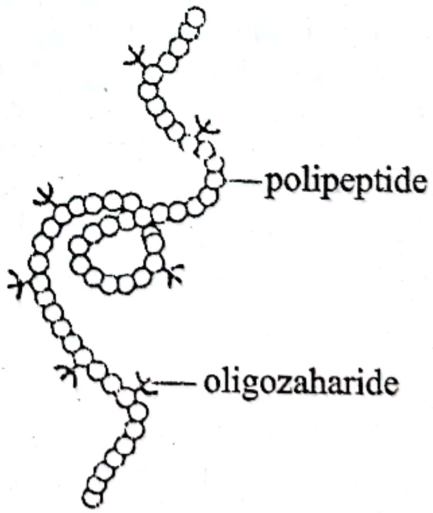


Fig. 2.4. ***Structura macromoleculară a ZP_3*** *(Thibault şi Levsseur, 1991).*

Scanned with OKEN Scanner

Spermatozoidul după trecerea prin zona pellucida ajunge în spaţiul perivitelin şi intră în contact cu membrana plasmatică a ovocitului.

Prin enzimele proteolitice ale membranei acrozomale, gametul mascul penetrează membrana vitelină. În momentul în care spermatozoidul ajunge cu întregul cap în citoplasma ovocitului, membrana plasmatică a spermatozoidului fuzionează cu marginile aperturii membranei viteline.

Se cunoaşte faptul că sub membrana plasmatică pe întreaga circumferinţă a ovocitului nepenetrat se remarcă *granulele corticale.* Când se realizează penetrarea de către spermatozoid a membranei viteline, aceste granule, la nivel de penetrare şi în zonele învecinate se sparg, iar conţinutul lor ajunge în zona perivitelină. Conţinutul granulelor eliminat, difuzează în spaţiul perivitelin şi realizează impermeabilizarea faţă de alţi spermatozoizi.

Blocarea polispermei poate fi lentă (circa 60 secunde) la vacă, iapă, oaie, scroafă, căţea şi hamster ; sau rapidă (1-2 secunde) pentru iepuroaică.

Formarea pronucleilor

Odată încorporat, spermatozoidul constituit din nucleu şi membrană nucleară, ajuns în citoplasma ovocitară, îşi măreşte capul nuclear. Apoi începe o rotaţie de 90°, odată cu apariţia a numeroşi nucleoli. Capul nuclear al spermatozoidului încorporat devine *pronucleu mascul.* Piesa intermediară pătrunsă şi ea în citoplasmă antrenează centriolul proximal.

Apoi are loc meioza II pentru ovocitul II, cu eliminarea celui de al *doilea globul polar,* iar setul cromozomial al ovulului rămas în citoplasmă se grupează şi se delimitează cu o membrană, apar nucleolii şi se transformă în *pronucleu femel.*

Singamia şi apariţia primului fus de clivaj

Pronucleii sunt antrenaţi prin contracţia microfilamentelor de actină, spre centrul ovulului. Aceştia cresc în volum şi realizează alipirea membranelor lor, realizându-se unirea pronucleilor *(singamia, amfimixia).* În urma acestui proces, seturile haploide de cromozomi al celor doi pronuclei se vor combina, realizându-se diploidia noii celule *(zigot, ou).*

Apoi are loc dispariţia membranelor pronucleare, apar cromozomii care se fixează pe microtubii de jumătate de fus prin kinetocori, ai primului fus de clivaj. Această formaţiune migrează prin oviduct spre coarnele uterine, ca urmare a contracţiilor musculaturii oviductului şi a mişcării cililor ai celulelor epiteliale ale pliurilor mucoasei oviducale. La majoritatea mamiferelor, această migraţie a formaţiunilor ce rezultă din diviziunile zigotului, spre uter, durează aproximativ 3 zile, timp în care se produce segmentaţia până în stadiul de *blastocist* cu 14-16 blastomere.

3. SEGMENTAŢIA

Prin segmentaţie se înţelege ansamblul diviziunilor pe care le îndeplineşte zigotul, diviziuni care duc la constituirea unor edificii pluricelulare simple, cunoscute sub denumirea de *morulă* şi *blastulă.* Segmentaţia la mamiferele placentare este *totală* (împărţirea masei zigotului este completă), *subegală* (blastomerele sunt de talie aproape egală) şi de tip *asincron* (mitozele nu sunt sincronizate, se succed fără ordine în timp) (fig. 3.1).

Scanned with OKEN Scanner

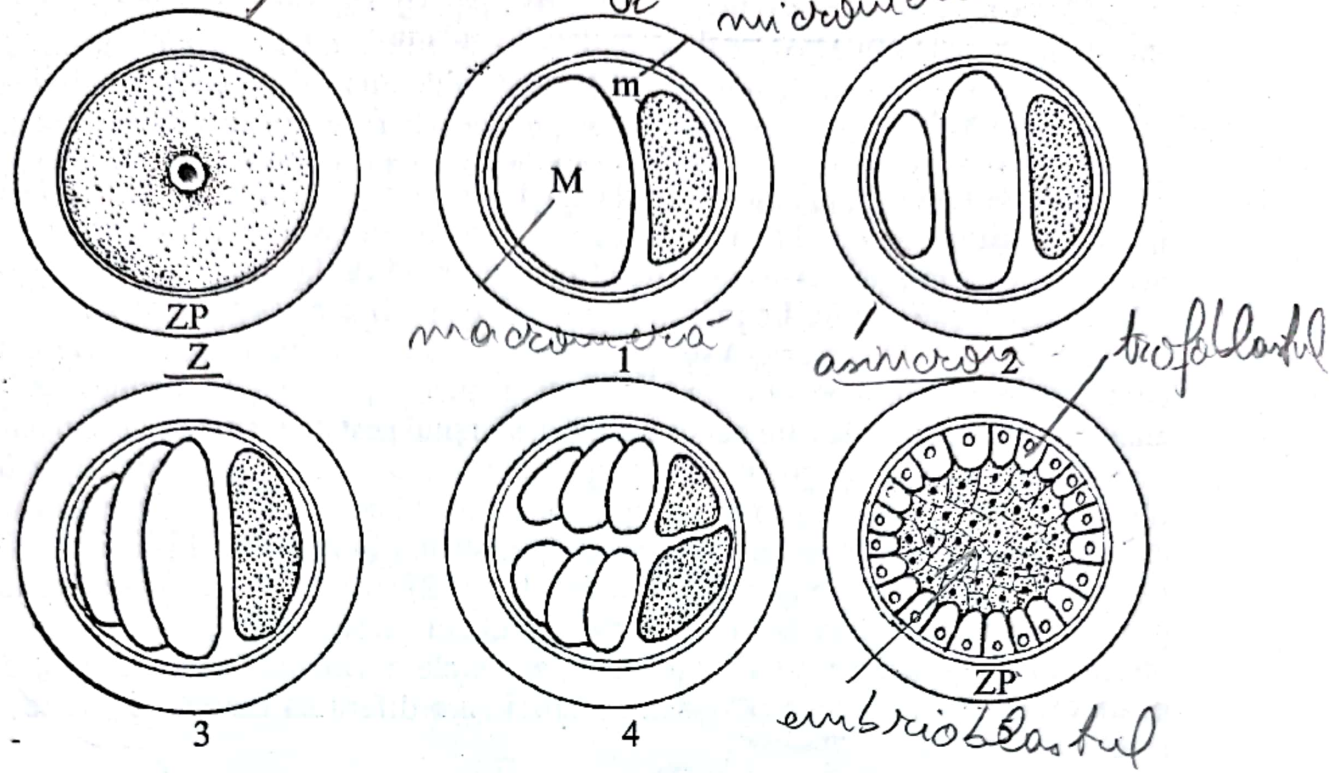


Fig. 3.1. ***Segmentarea la mamiferele placentare*** : Z-zigotul ; ZP-zona pellucida. 1- stadiul cu două blastomere (M-macromeră ; m-micromeră) ; 2- stadiul cu trei blastomere ; 3- stadiul cu patru blastomere ; 4- stadiul cu opt blastomere ; 5- morula.

Prima diviziune de segmentare a zigotului duce la formarea a două celule fiice, dintre care una este voluminoasă, cu aspect clar numită *macromeră* şi una de talie mai mică şi închisă la culoare, numită *micromeră*. Ambele se găsesc în spaţiul delimitat de membrana pelucidă a zigotului. La mamifere, diviziunile de segmentaţie sunt asincrone, astfel macromera se va divide înaintea micromerei, rezultând stadiul cu trei *blastomere*. Acest stadiu este foarte efemer, pentru că imediat unul din cele două macromere se va divide, luând naştere stadiul de *patru blastomere*, dintre care trei sunt clare şi unul întunecat. De aici încolo, ritmul de înmulţire al blastomerelor devine cu totul neregulat, iar planurile de segmentaţie nu au nici o ordonare spaţială anumită. De asemenea dispar şi diferenţele volumetrice între blastomerele clare şi cele întunecate. Rezultatul final va fi edificarea unei *morule* alcătuită dintr-un bloc compact de celule întunecate cu contururi poligonale, care în ansamblul lor constituie *embrioblastul (butonul embrionar)*. Acesta va fi înconjurat de o pătură celulară monostratificată, formată din celule clare care formează în totalitatea lor *trofoblastul*. Toate transformările descrise până aici , se petrec în cuprinsul zonei pelucide, care spre stadiile finale se va subţia treptat şi va dispare definitiv. Prin dispariţia zonei pelucide, trofoblastul vine în contact intim cu mucoasa uterină şi va mijloci ulterior nutriţia embrionului.

Celulele embrioblastului secretă un lichid albuminos care se acumulează printre ele. Prin confluarea acestor spaţii pline, rezultă o cavitate numită *lecitocel*. Lichidul împinge celulele embrioblastului spre polul apical. Această formaţiune care cuprinde *lecitocelul*, *butonul embrionar* şi *trofoblastul* poartă denumirea de

blastulă, care apare la şapte zile, după fecundaţie. Trofoblastul stabileşte legături cu mucoasa uterină şi în acest mod se realizează nidaţia.

3.1. Nidaţia

Nidaţia constă în cuibărirea blastulei în grosimea mucoasei uterine. Deci la mamifere între momentul fecundaţiei şi cel al nidaţiei, se scurge un timp suficient de lung. Aceasta este perioada ovulară care durează de la câteva zile, până la 12 zile, în funcţie de specie. La mamifere nidaţia poate fi : a) *de tip central* (taurine, ovine, suine, ecvine, leporide) se produce în coarnele uterine unde blastula vine în contact prin trofoblast pe întreaga suprafaţă cu mucoasa uterină. Se stabilesc legături anatomice şi funcţionale care persistă până la sfârşitul gestaţiei, cunoscute sub numele de *placentă* ; b) *de tip excentric* (şoarece) care se caracterizează prin pătrunderea blastulei într-o adâncitură a mucoasei uterine, situată pe unul din pereţii uterului. În curând orificiul acestei adâncituri se închide, fixând în acest mod blastula ; c) *de tip interstiţial* (cobăiţă, maimuţă, femeie) (fig. 3.2), prin care blastula pătrunde în grosimea mucoasei uterine (*endometrul*). Celulele trofoblastului distrug epiteliul uterin, blastula luând contact intim cu elementele corionului endometrial. Odată nidaţia îndeplinită, începe perioada gestaţiei care diferă ca durată de la specie la specie.

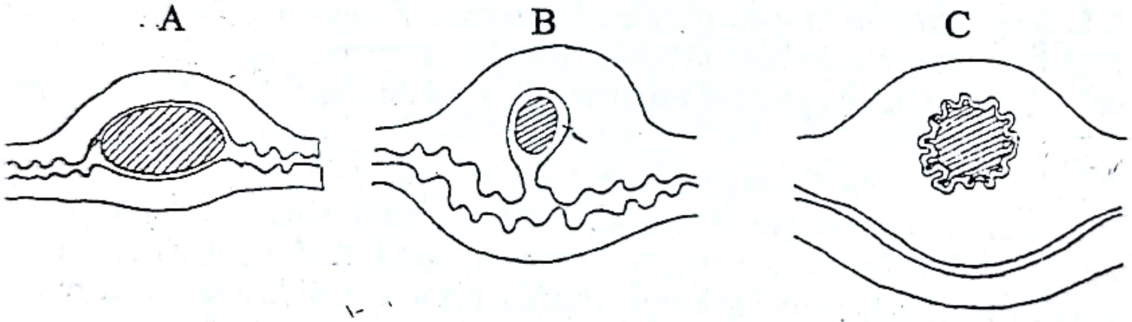


Fig. 3.2. *Nidaţia*: A-centrală ; B-excentrică ; C-interstiţială.

Dacă la început zigotul şi apoi până la faza de morulă, celulele îşi desfăşoară metabolismul pe seama propriilor rezerve nutritive pe care le epuizează repede, odată însă cu nidaţia, procesele de nutriţie se îndeplinesc prin intermediul placentei din materialele nutritive pe care i le furnizează circulaţia maternă.

4. GASTRULAŢIA

Gastrulaţia la mamiferele placentare cuprinde două etape. În prima etapă se formează *endoblastul* şi *ectoblastul*, iar în a doua, se formează *mezoblastul*.

Formarea endoblastului şi ectoblastului. Pe faţa profundă a butonului embrionar care vine în contact cu lichidul vitelin, se diferenţiază câteva celule mai întunecate care proliferează şi căptuşesc în final embrioblastul sub forma unei foiţe continue edificând *endoblastul*. În această fază, trofoblastul emite la exterior numeroase prelungiri de diferite forme şi dimensiuni, pentru a mări suprafaţa de contact dintre blastulă şi elementele mucoasei uterine. În momentul în care endoblastul

Scanned with OKEN Scanner

este pe cale să se desăvârşească căptuşind întreaga cavitate a lecitocelului, în blocul de celule care formează butonul embrionar, ia naştere prin clivaj un spaţiu nou, care se lărgeşte progresiv prin acumulare de lichid, constituind *cavitatea amniotică*. Din celulele care delimitează această cavitate, se va forma ectoblastul astfel : la ovine, suine şi leporide, tavanul cavităţii amniotice primitive împreună cu trofoblastul de suprafaţă dispar şi din podeaua cavităţii amniotice se organizează *ectoblastul*. La şoarece şi şobolan, tavanul cavităţii amniotice persistă, se exfoliază numai trofoblastul de la suprafaţă şi din tavan se organizează ectoblastul. În schimb, la ecvine, taurine, carnasiere, nu mai apare cavitatea amniotică, trofoblastul de la exteriorul blastulei se exfoliază şi din celulele superficiale ale butonului embrionar se formează ectoblastul.

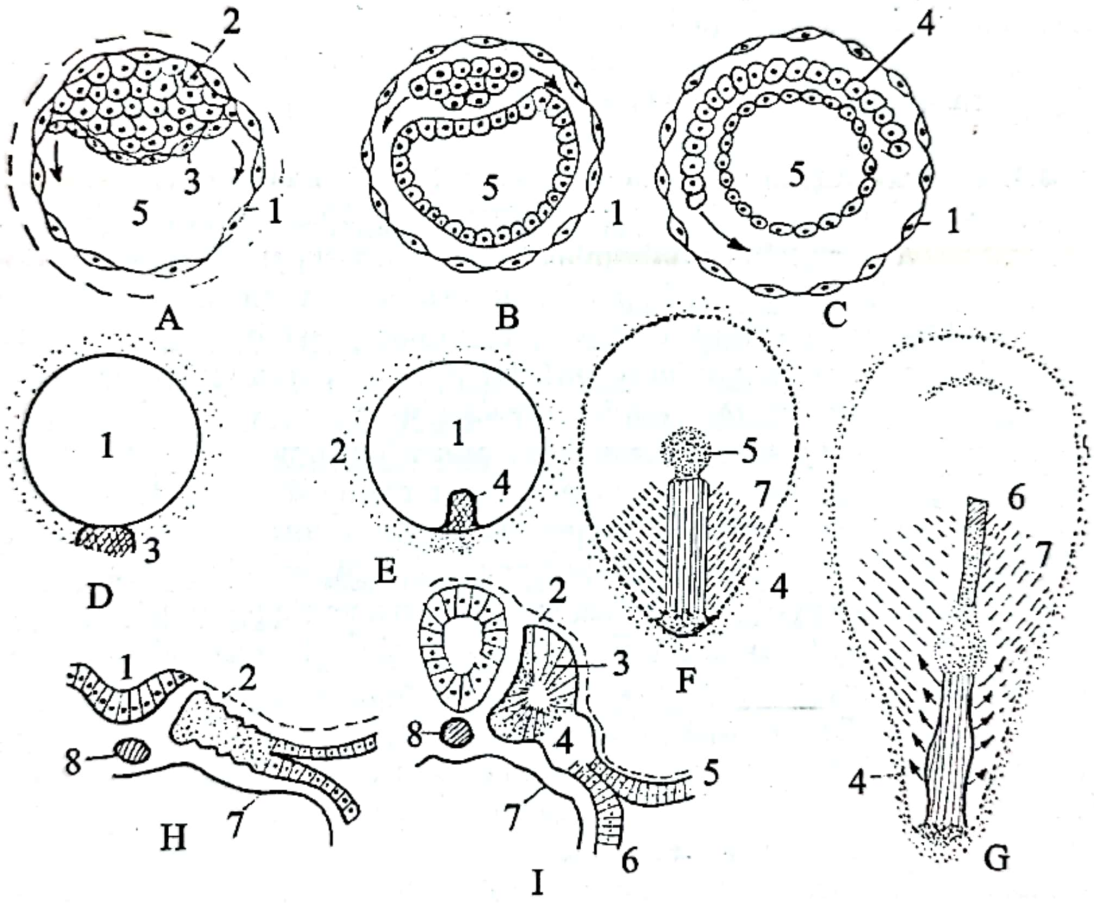


Fig. 4.1. ***Gastrulaţia la mamifere (A,B,C)*** : 1-trofoblast ; 2-buton embrionar ; 3-începutul endoblastului ; 4-ectoblast ; 5-cavitatea blastocelică . A-stadiul didermic ; B-stadiul intermediar ; C-stadiul tridermic. D,E-Discul embrionar : 1-aria pelucidă ; 2-aria opacă ; 3-nodulul posterior ; 4-linia primitivă. F,G-stadii succesive în dezvoltarea formaţiunilor discului embrionar. 4-linia primitivă ; 5-nodulul lui Hensen ; 6-prelungirea cefalică ; 7-mezoblast. H,I-secţiuni transversale prin embrionul de mamifer : 1-şanţ neural ; 2-ectoblast ; 3-somită ; 4-piciorul somitei ; 5-somatopleura ; 6-splanchnopleura ; 7-endoderm ; 8-notocord.

Formarea mezoblastului. Când prima etapă a gastrulaţiei a luat sfârşit şi când ectoblastul şi endoblastul sunt complet diferenţiate, cele două foiţe sunt în

Scanned with OKEN Scanner

contact pe o suprafaţă care privită de sus, are o formă circulară (*zona embriogenă*). Această suprafaţă circulară care mai poartă denumirea şi de arie embrionară sau câmp embrionar, ia ulterior un aspect piriform, capătul mai ascuţit marcând extremitatea caudală a câmpului embrionar, iar la partea rotunjită – capătul cranial. La capătul caudal se organizează o formaţiune mai opacă, denumită *nodulul posterior,* din care se dezvoltă o zonă mai întunecată *(linia primitivă).* Când aceasta a ajuns la mijlocul câmpului embrionar, creşterea ei încetează, iar la extremitatea ei anterioară se formează o mică îngroşare – *nodulul Hensen.* După constituirea acestui nodul, îşi face apariţia o formaţiune opacă ce porneşte de la nodulul lui Hensen, înaintând în direcţie anterioară şi urmând linia mediană a câmpului embrionar, care poartă denumirea de *prelungire cefalică* a liniei primitive (fig. 4.1).

Dacă se practică o secţiune transversală prin aria embrionară la diverse nivele, se constată că de pe părţile laterale ale liniei primitive se desprind şi migrează numeroase celule cu contururi neregulate, care se răspândesc rapid între ectoblast şi endoblast, structurând în acest mod *mezoblastul.*

4.1. Formarea ţesuturilor şi organelor din cele trei foiţe embrionare

Ectoblastul. Celulele ectoblastului în porţiunea superficială se vor divide activ, dând naştere la *placa neurală,* apoi se formează o invaginare sub forma unui *şanţ neural.* Marginile şanţului neural se sudează restabilind continuitatea ectodermului, dând naştere *tubului neural.* De fiecare parte a tubului neural apar benzi celulare ce structurează *crestele neurale* din care se vor forma ganglionii rahidieni, ganglionii simpatici, paraganglionii cromafini şi medulosuprarenala. Din porţiunea anterioară a tubului neural care se va structura sub formă de vezicule, va lua naştere encefalul, iar din porţiunea posterioară se va forma măduva rahidiană. Tot din ectoderm se formează : epiteliul bucal şi anal, epiteliul nazal, hipofiza (adenohipofiza şi neurohipofiza), epifiza, epiderma şi anexele pielii (părul, glandele sudoripare şi sebacee, fanerele), smalţul dentar, epiteliul senzorial (organele de simţ), cristalinul, glandele salivare şi glanda mamară.

Endoblastul. Din această foiţă iau naştere : epiteliul tubului digestiv (cu excepţia epiteliilor cavităţii bucale şi canalului anal) ; epiteliile aparatului respirator (cu excepţia epiteliului nazal), ficatul, vezica biliară, pancreasul, tiroida, paratiroidele şi timusul, epiteliul vezicii urinare, celulele germinale primordiale.

Mezoblastul. Această foiţă apare între ectoblast şi endoblast şi ulterior se fragmentează în trei regiuni : o porţiune dorsală *(somitele)* ; o parte intermediară *(zona nefrogenă)* şi o zonă laterală care dă naştere la două foiţe – o foiţă externă numită *somatopleura* şi alta internă *splanchnopleura* – între care se delimitează o cavitate numită *cavitatea celomică.*

Somitele au şi ele trei regiuni : regiunea medio-dorsală *(miotom)* din care vor lua naştere mioblaştii care vor forma *muşchii* ; regiunea medio-ventrală *(sclerotom)* şi regiunea laterală *(dermatom),* care va structura dermul şi hipodermul. Din *sclerotom* se desprind celulele mezenchimale, care migrează în jurul tubului neural, structurând a patra foiţă embrionară cunoscută sub denumirea de *mezenchim.*

Scanned with OKEN Scanner

Zona intermediară (zona nefrogenă) se segmentează transversal în vezicule nefrogene ale *pronefrosului* (*mugure*), ale *mezonefrosului* (*corpul lui Wolff*) şi ale *metanefrosului* (*rinichiul definitiv*).

Zona laterală cu cele două foiţe va da naştere la o serie de organe şi la foiţe cu rol de susţinere a acestor organe. Deci, din toate foiţele embrionare, mezodermul şi mezenchimul sunt cele mai bogate în elemente de diferenţiere. Mezodermul poate edifica singur ţesuturi, organe şi aparate, pe de o parte, iar pe de altă parte, participă la formarea tuturor organelor sau aparatelor care s-au dezvoltat din celelalte două foiţe embrionare. În concluzie, mezodermul şi mezenchimul stau la baza formării : ţesuturilor conjunctive propriu-zise şi metaplaziate (cartilaginos şi osos) ; muşchilor striaţi şi netezi ; aparatului cardio-vascular (cordul, arterele, venele, capilarele, *endoteliul* acestor organe ia naştere tot din aceste foiţe) ; organelor hematopoetice (măduva osoasă hematogenă, limfonozii, splina şi vasele limfatice), seroaselor (peritoneu, pleură, pericard, sinoviale) ; meningelui (dura mater, arahnoida, pia mater) ; corticosuprarenalei, rinichiului, gonadelor şi a unor segmente ale aparatelor genitale.

4.2. Anexele embrionare la mamifere

Anexele embrionare au rolul în nutriţia embrionului sau a fetusului. Prin ele viitorul produs îşi procură toate substanţele necesare îndeplinirii funcţiilor biotice şi edificării propriilor ţesuturi. În acelaşi timp sunt organe prin care se elimină produsele dăunătoare, rezultate din activitatea metabolică a embrionului şi fetusului. Anexele embrionare la mamifere sunt : *vezicula ombilicală (vezicula vitelină), amniosul, alantoida* şi *placenta*.

4.2.1. Vezicula ombilicală (vezicula vitelină)

Este o formaţiune ce derivă din endoderm. Ea ocupă cavitatea lecitocelică care odată cu îndoirea câmpului embrionar, aceasta se împarte în două compartimente : un compartiment închis în corpul embrionului, reprezentând *intestinul primitiv* căptuşit de endoblast şi altul, mai spaţios, situat extraembrionar devine *veziculă ombilicală* care este căptuşită de endoblastul extraembrionar (fig. 4.2).

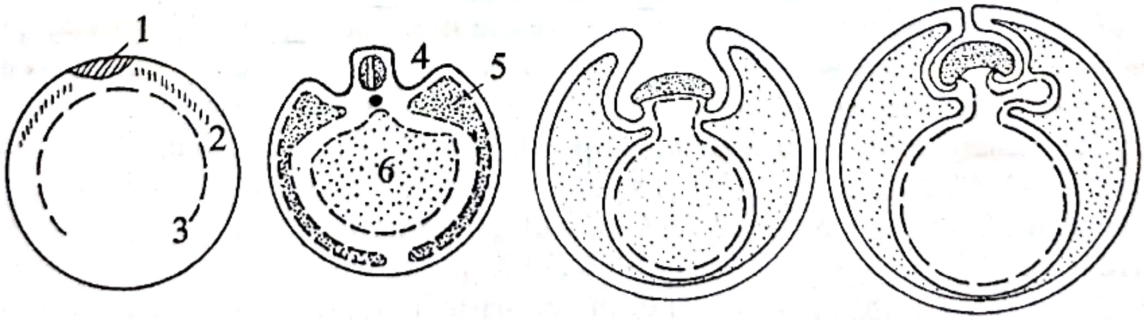


Fig. 4.2. ***Stadiile de formare ale amniosului şi alantoidei la mamifere*** :
1-placa neurală ; 2-mezoblast ; 3-endoblast ; 4-cute amniotice ; 5-celom ; 6-veziculă ombilicală.

Scanned with OKEN Scanner

Vezicula ombilicală comunică cu intestinul embrionului printr-un canal denumit *canalul ombilical.* Rolul ei este de rezervor de substanţe nutritive pentru etapa timpurie a embriogenezei, ulterior, ea regresează.

4.2.2. Amniosul

Acesta se formează din îndoiturile ectodermului şi somatopleurei extraembrionare prin scufundarea embrionului în cavitatea lecitocelică. În acest mod rezultă o cavitate numită cavitatea amniotică. Epiteliul amniosului secretă un lichid limpede şi transparent, numit *lichid amniotic,* în care pluteşte embrionul şi apoi fătul. Prin creştere, această cavitate va înconjura embrionul, până la nivelul cordonului ombilical, oferind acestuia o protecţie deosebită contra traumatismelor din afară şi dă posibilitatea de schimbare a poziţiei fetusului.

4.2.3. Alantoida

Este o anexă de natură endodermică şi mezodermică plasată între corion şi amnios. Se dezvoltă din endodermul intestinal al segmentului caudal, care prin proliferare şi invaginare dă naştere unui mugure alantoidian digitiform. Pe măsură ce acest mugure creşte, se infiltrează între amnios şi vezicula ombilicală, reducând tot mai mult spaţiul ocupat de cavitatea celomică. Odată cu creşterea sacului alantoidian, este antrenată şi splanchnopleura la exterior. Alantoida rămâne legată de locul de origine printr-un mic pedicul care poartă denumirea de *canalul urac.* În foiţa viscerală mezodermică ce căptuşeşte alantoida se va dezvolta o bogată reţea vasculară, ce se va pune în legătură cu vasele viteline pe care le înlocuieşte treptat, alcătuind cea de a doua circulaţie fetală *(circulaţia alantoidiană)* formată din *două artere şi două vene alantoidiene.* Sacul alantoidian conţine lichidul alantoidian în care se varsă urina fătului prin intermediul canalului urac.

4.2.4. Placenta

Placenta este o anexă embrionară care la mamifere va funcţiona până la sfârşitul gestaţiei, asigurând schimburile de substanţe în dublu sens, între fetus şi organismul matern. Învelitoarea cea mai externă din aria extraembrionară este *corionul,* care provine din celulele macromere ale morulei. După dispariţia zonei pelucide, acestea vor constitui *corionul primar* sau *procorionul (trofoblastul).* Pe toată suprafaţa acestuia se dezvoltă nişte formaţiuni filiforme, numite *vilozităţile primare.* Pe măsură ce se dezvoltă alantoida şi se formează vasele sanguine, vilozităţile se repartizează diferit (după specie) şi se angrenează în criptele mucoasei uterine, constituind astfel *vilozităţile secundare.* Corionul astfel transformat se numeşte *corion definitiv.* Această legătură creată între mamă şi făt, formată din *vilozităţile coriale* şi *mucoasa uterină,* constituie *placenta.* Legătura aceasta însă, nu trebuie interpretată ca un contact fizic simplu între două ţesuturi, ci ca un organ nou creat cu funcţii multiple. Faptul că la formarea placentei concură o componentă fetală şi una maternă, i-a determinat pe unii autori să folosească terminologia de *placenta fetală şi placenta maternă.*

Scanned with OKEN Scanner

Vilozitatea corială este constituită dintr-un ax de ţesut conjunctiv lax, acoperit de *trofoblast* ce cuprinde două rânduri de celule distincte din punct de vedere morfologic : *citotrofoblastul* şi *sinciţiotrofoblastul* (fig. 4.3).

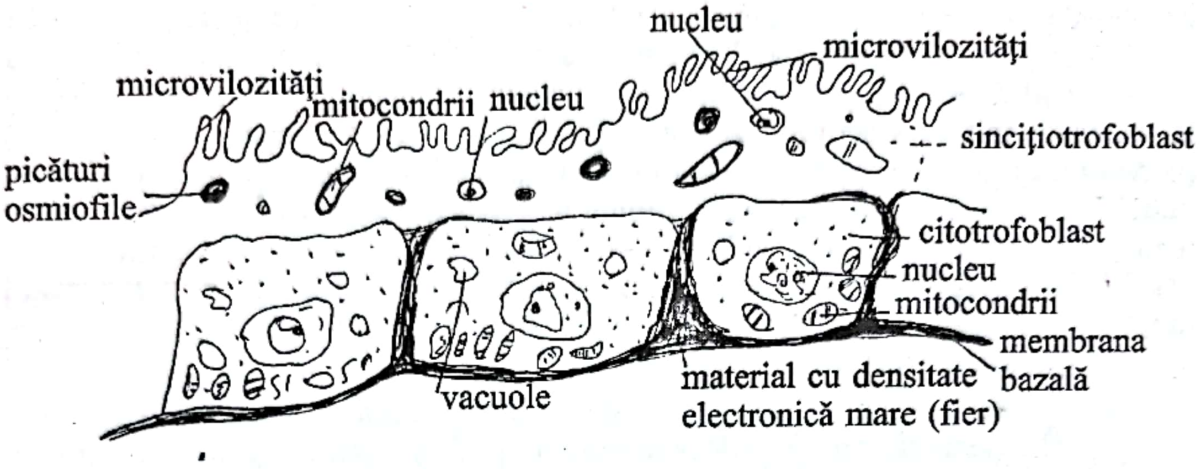


Fig. 4.3. ***Trofoblastul la ME.***

Citotrofoblastul (stratul intern sau stratul celulelor *Langhans*) acoperă axul conjunctiv şi este format din celule mari, cu nucleii veziculoşi, nucleolaţi şi cu citoplasma de aspect clar. La ME se remarcă numeroase mitocondrii, un reticul endoplasmic granular (ergastoplasma) şi un aparat Golgi perinuclear. Printre celule se observă prezenţa fierului care apare ca material cu densitate electronică mare. Stratul extern al trofoblastului *(sinciţiotrofoblastul)* este de culoare mai închisă, de grosime variabilă şi posedă numeroşi nuclei dispersaţi în masa de citoplasmă. Citoplasma este vacuolară, spumoasă, iar în coloraţiile citochimice, s-au evidenţiat lipide, colesterol şi esteri de colesterol, acid L-ascorbic şi proteoglicani. Ca organite se remarcă un reticul endoplasmic agranular în contact cu incluziunile lipidice şi cu mitocondriile, ceea ce demonstrează rolul lor în elaborarea hormonilor steroizi sexuali. În apropierea nucleilor se remarcă complexe Golgi, a căror vezicule conţin material secretor cu densitate electronică mare. De evidenţiat faptul că membrana externă a sinciţiotrofoblastului este expansionată în numeroase microvilozităţi.

În funcţie de repartizarea vilozităţilor coriale pe suprafaţa corionului, placentele pot fi : *difuze* la suine şi ecvine ; multiple *(multicotiledonare)* la taurine, ovine şi caprine ; *zonare* la carnasiere şi *discoidale* la şoarece, maimuţă şi femeie (fig. 4.4).

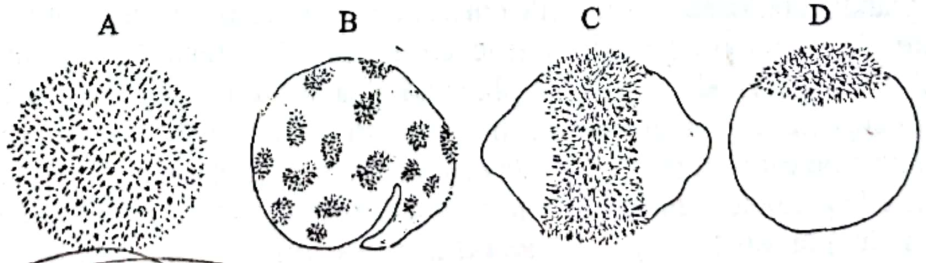


Fig. 4.4. ***Tipuri de placente***: A-difuză ; B-multicotiledonară ; C-zonară ; D-discoidală.

Scanned with OKEN Scanner

Placentele difuze se caracterizează prin dispoziţia vilozităţilor pe întreaga suprafaţă a corionului, ele angrenându-se cu criptele de la nivelul mucoasei uterine. *Placentele multiple* (*multicotiledonare*) sunt caracteristice rumegătoarelor, unde vilozităţile coriale se grupează în formaţiuni insulare *(cotiledoane)*, despărţite unele de altele prin suprafeţe de corion nevilos. Aceste cotiledoane se angrenează în formaţiunile *caruncular*e de la nivelul mucoasei uterine unde împreună structurează *placentomul*. Placentoamele sunt organizate pe patru rânduri (în număr de 80-120) la rumegătoare. *Placentele zonare* prezintă vilozităţile repartizate pe o anumită *zonă de formă circulară*, fiind caracteristice carnasierelor. *Placentele discoidale* au vilozităţile repartizate pe o parte a corionului sub formă de *disc*, fiind caracteristice rozătoarelor, şi primatelor.

Dacă se ţine seama de modul şi profunzimea legăturilor ce se realizează între vilozităţile coriale şi mucoasa uterină, se pot distinge mai multe tipuri de placente (fig. 4.5).

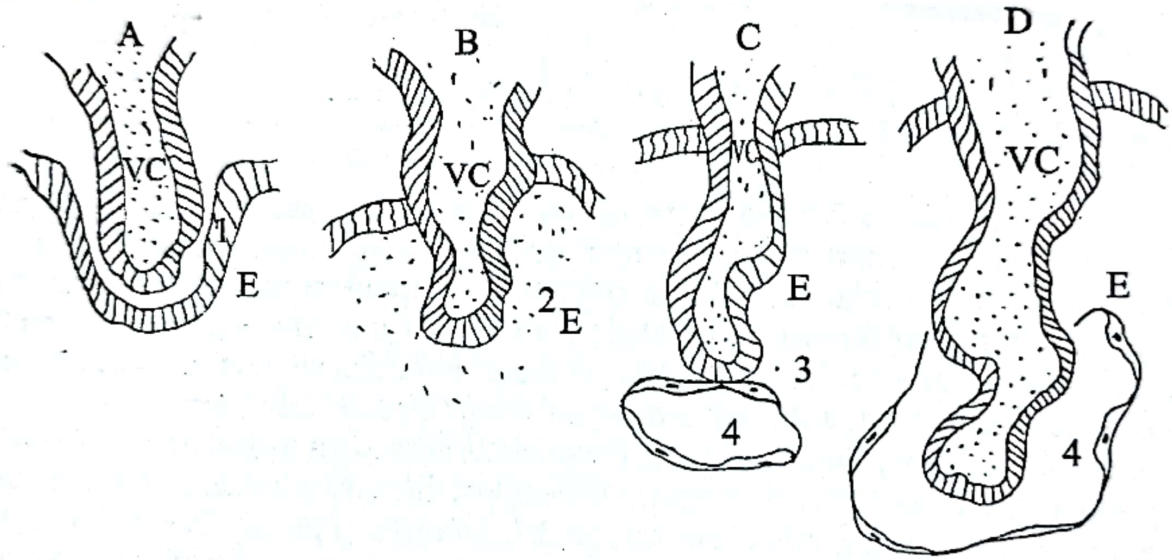


Fig. 4.5. ***Tipuri de placente*** : A-epiteliocorială ; B-sindesmocorială ; C-endoteliocorială ; D-hemocorială ; VC-vilozitatea corială ; E-endometrul ; 1-epiteliul endometrului ; 2-corionul ; 3 –endoteliul vascular ; 4-lumenul vasului sanguin.

Înainte de a se descrie fiecare tip de placentă, este necesar să se dea câteva noţiuni despre *mucoasa uterină* (*endometrul*). Este formată dintr-un *epiteliu prismatic simplu* cu celule secretoare şi un *corion citogen* foarte bogat vascularizat şi cu numeroase glande tubuloase. Vilozităţile coriale au la majoritatea speciilor proprietatea specifică de a secreta un principiu litic care lizează diferitele componente ale endometrului, structurând tipurile de placentă. Dacă nu ar exista această secreţie litică, atunci angrenajul placentar nu s-ar mai forma. Gradul de pătrundere şi de liză a mucoasei uterine este cel mai scăzut la ecvine şi suine *(placenta epiteliocorială)* şi cel mai ridicat la primate *(placenta hemocorială)*. După criteriul histologic se descriu cinci tipuri de placente : *epiteliocorială, sindesmocorială, endoteliocorială, hemocorială* şi *hemo-endoteliocorială*.

Scanned with OKEN Scanner

Placenta epiteliocorială. Este cea mai simplă modalitate de angrenare a *placentei fetale (vilozităţile coriale)* cu *placenta maternă (mucoasa uterină).* Cele două componente, fetală şi maternă îşi păstrează integritatea structurală, între ele stabilindu-se doar raporturi de strânsă vecinătate. Aceasta se întâlneşte la *suine, ecvine* şi la *vacă* în primele luni de gestaţie (apoi în următoarele luni devine sindesmocorială). Epiteliul trofoblastic şi epiteliul uterin care este intact, sunt despărţite doar de un mic spaţiu plin cu *»laptе uterin»* sau *lichid embriotrof,* secretat de glandele uterine. Lichidul embriotrof va fi preluat prin vilozităţile coriale şi utilizat ca hrană pentru embrion sau fetus. Structura placentei epiteliocoriale, ne explică de ce în momentul fătării nu se produc distrugeri ale mucoasei uterine.

Placenta sindesmocorială. În acest tip de placentă, raporturile dintre elementele părţii fetale şi ale celei materne, sunt mai intime. Celulele epiteliale ale trofoblastului vilozităţilor coriale distrug o bună parte a epiteliului uterin, intrând în contact cu elementele vasculo-conjunctive (*corionul citogen*) ale mucoasei uterine. Acest tip de placentă se întâlneşte la *rumegătoare* fiind *multicotiledonară.* La vacă în primele luni de gestaţie este epiteliocorială, apoi în următoarele luni până la parturiţie, placenta devine sindesmocorială. Structura histologică a acestui tip de placentă explică de ce odată cu eliminarea placentei fetale, sunt antrenate şi fragmente mici de mucoasă uterină.

Placenta endoteliocorială. În acest caz, raporturile între vilozităţile coriale şi mucoasa uterină sunt mult mai directe. Trofoblastul vilozităţilor coriale prin substanţele litice pe care le elaborează, distrug epiteliul uterin şi elementele conjunctive ale mucoasei uterine. În acest mod ele intră în contact direct cu vasele materne pe care le încorporează în masa lor. Vasele materne îşi păstrează integritatea peretelui endotelial. Acest tip de placentă se întâlneşte la *carnasiere.*

Placenta hemocorială la care vilozităţile coriale intră în contact direct cu masa sanguină a circulaţiei materne. Acest tip de placentă este caracteristic primatelor.

Placenta hemo-endoteliocorială se remarcă la *şoricioacă, cobăiţă* şi *iepuroaică.* Ea prezintă caractere morfologice care o aseamănă cu cea endoteliocorială, cât şi cu cea hemocorială. Vilozităţile coriale vin în contact intim cu endoteliul vascular matern (caracter ce aparţine tipului de *placentă endoteliocorială*) şi cu sângele matern (vilozităţile plutesc în lacunele de sânge materne, caracter ce aparţine tipului de *placentă hemocorială*).

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.5 *Tipurile de placente (țesuturile care separă sângele fetal de cel matern)*

După angrenajul intim al vilozităților coriale	Țesut matern (mucoasa uterină)			Țesutul fetal			După dispoziția vilozităților coriale	Exemple tipice
	Endoteliu	Lamina propria	Epiteliu	Epiteliul trofoblastului	Țesut conj.	Endoteliu		
Epitelio-corială	+	+	+	+	+	+	Difuză	scroafă, iapă, vacă (în primele luni)
Sindesmo-corială	+	+	–	+	+	+	Multico-tiledonară	vacă (în ultimele luni), oaie, capră
Endotelio-corială	+	–	–	+	+	+	Zonară	pisică, câțea, nevăstuică
Hemo-corială	–	–	–	+	+	+	Discoidală	primate
Hemo-endotelio-corială	– +	– –	– –	+	+	+	Discoidală Zonară	șoricioaică cobăiță iepuroaică

\+ prezența
– absența

5. DEZVOLTAREA EMBRIONARĂ LA PĂSĂRI

Dezvoltarea embrionului în afara organismului la păsări, a dus implicit la creșterea rezervei de substanțe nutritive în ovul (de tip *telolecit*) și ca atare și în ou, cu atât mai mult, cu cât coaja oului nu permite pătrunderea de substanțe nutritive din exterior. Fecundarea ovulului are loc la nivelul *infundibulului oviductului*. Procesele prin care are loc dezvoltarea embrionului la pasăre, sunt cele generale descrise la mamifere : segmentația, gastrulația și formarea organelor. Aceste procese prezintă totuși unele particularități la păsări.

Scanned with OKEN Scanner

5.1. Segmentaţia

La păsări se întâlneşte segmentaţia *parţială* şi *discoidală* caracteristică ouălor *telolecite*, care posedă o cantitate enormă de vitelus nutritiv. La păsări, segmentaţia interesează numai vitelusul formativ, care este dispus sub forma unui disc subţire la polul animal al zigotului, formând *discul germinativ (cicatricula)*. Masa de vitelus va rămâne nesegmentată, de unde şi denumirea de segmentare parţială de tip discoidal. La păsări, în timp de aproximativ 24 ore cât are loc migrarea ovulului (gălbenuşul) sau zigotului, dacă ovulul a fost fecundat, prin oviduct pentru formarea oului în sens uzual al cuvântului, are loc procesul de segmentare care se continuă dacă sunt create condiţiile de incubaţie pentru ou. Segmentaţia începe de timpuriu, din momentul când *ovulul (gălbenuşul)* a fost fecundat în treimea superioară a infundibulului oviductului. Devenind *zigot*, după patru ore, el prezintă *opt blastomere,* iar la şapte ore are *152 blastomere* (fig. 5.1). Şanţurile de segmentaţie nu afectează în întregime masa oului. Iniţial, nici masa vitelusului formativ nu este afectată în întregime, segmentaţia fiind localizată numai într-o arie restrânsă de la polul animal. În final, rezultă *morula,* din care se va forma *blastula.* Aceasta rezultă în urma unor profunde transformări din masa morulei, în urma cărora se formează cavitatea de segmentare. Blastula are o cavitate de segmentare. Blastula are o formă discoidală, numită din această cauză şi *discoblastulă (blastodisc),* care este dispusă dorsal gălbenuşului. Centrul discoblastulei apare ca o zonă transparentă *(aria pelucidă),* iar conturul este întunecat datorită grosimii structurilor sale *(zona opacă).* Regiunea din blastodisc care se evidenţiază la acest nivel va forma mai târziu regiunea dorsală a embrionului (fig. 5.2).

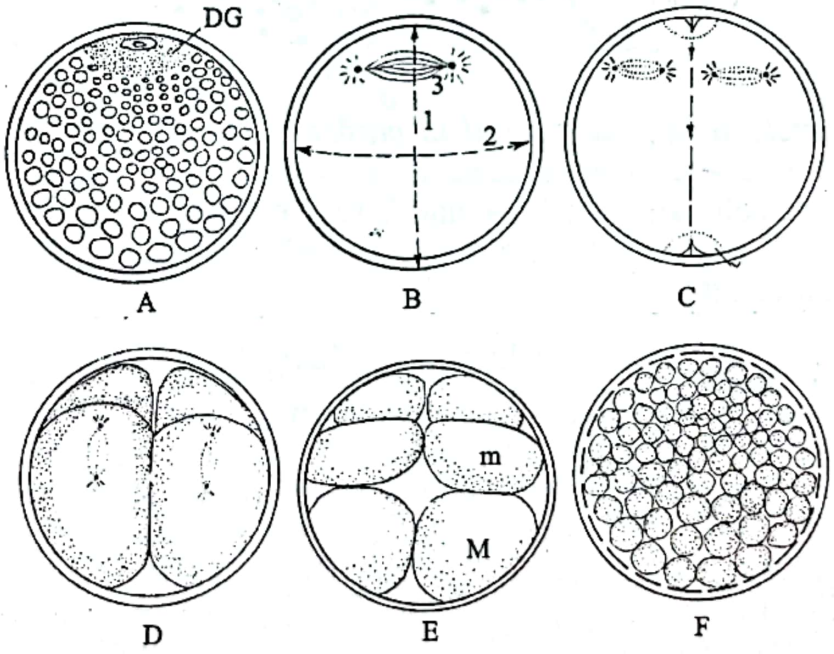


Fig. 5.1. ***Segmentarea zigotului de pasăre.*** A-Granulele de vitelus din citoplasmă; DG-discul germinativ; B-Dispoziţia fusului de diviziune: 1-axa (pol animal – pol vegetal); 2-ecuatorul zigotului; 3-fusul de diviziune; C-Apariţia şanţului de plasmodierază; D-Stadiul de 4 blastomere; E-Stadiul de 8 blastomere (M-macromeră; m-micromeră); F-morula.

Scanned with OKEN Scanner

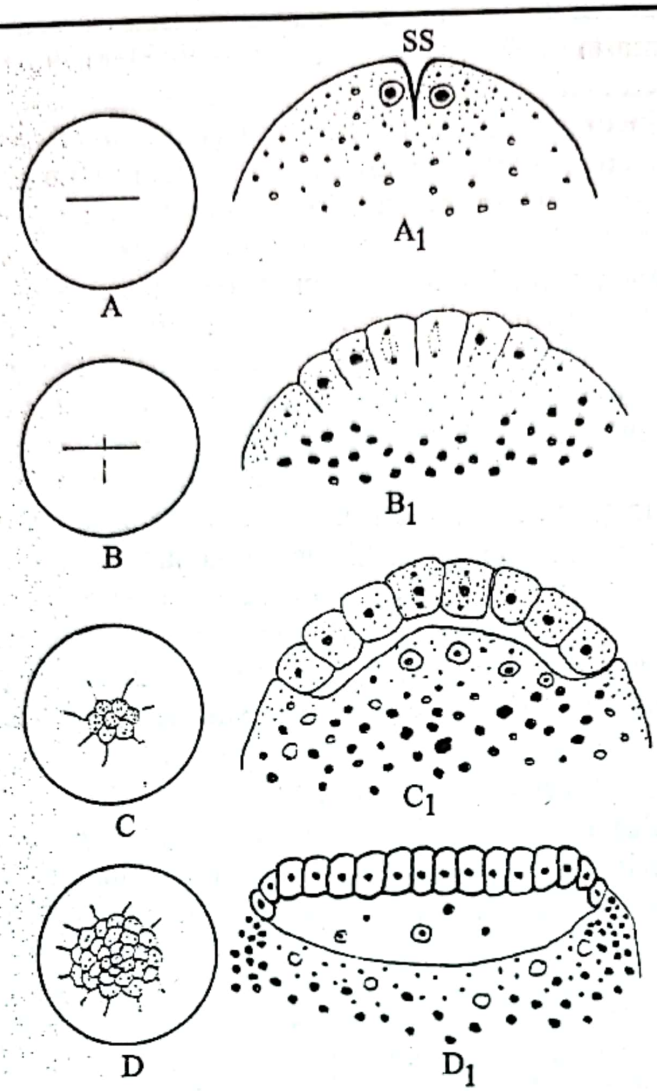


Fig. 5.2. ***Aspectele segmentării oului la pasăre.*** A, B, C, D - polul animal şi direcţia şanţurilor de segmentare (văzute de la suprafaţă) ; A_1, B_1, C_1, D_1 - secţiuni perpendiculare pe polul animal ; SS - şanţ de segmentare.

5.2. Gastrulaţia

Înaintea începerii gastrulaţiei, discul embrionar văzut din faţă, apare ca o suprafaţă circulară prezentând o zonă mai transparentă centrală numită *aria pelucidă*, înconjurată de o zonă mai întunecată (*aria opacă*). Viitorul *embrion* se va dezvolta din zona corespunzătoare *ariei pelucide,* imediat ce ouăle sunt puse în condiţii de incubaţie. Odată cu punerea la incubaţie a oului, se poate considera început şi cel de al doilea stadiu, respectiv gastrulaţia. Aceasta poate fi sistematizată în două etape : realizarea stadiului *didermic (endoblast* şi *ectoblast)* şi a doua etapă, realizarea stadiului *tridermic* prin apariţia mezoblastului.

Cele trei foiţe embrionare se vor forma la nivelul blastodiscului şi din ele va lua naştere embrionul. Prin proliferarea marginei libere a blastodiscului, celulele care vor lua naştere vor acoperi treptat întreaga masă de vitelus nutritiv. Acest

Scanned with OKEN Scanner

proces de învelire a masei viteline se numeşte *epibolie.* Elementele sale componente vor da naştere foiţelor extra- embrionare.

Prin invaginarea stratului celular superficial la nivelul marginei sale posterioare, va lua naştere în urma unui proces proliferativ, un rând de celule care vor dubla stratul superficial. Stratul nou format se numeşte *endoblast,* iar stratul superficial – *ectoblast.*

Etapa următoare a gastrulaţiei este mult mai dinamică. În plină arie opacă, la nivelul polului caudal apare o formaţiune proliferativă ectoblastică cu un aspect întunecat având o formă triunghiulară. Aceasta atinge cu vârful său, aria pelucidă şi formează *nodul posterior.* La nivelul marginei anterioare a acestui nodul se produce (la 12 ore de la incubaţie) o proliferare ectoblastică pe linia mediană, în direcţia caudo-cranială numită *linia primitivă.* Extremitatea anterioară a liniei primitive se termină printr-o formaţiune îngroşată numită *nodul anterior,* marcat central de o depresiune (*fosetă primitivă*). De la nodulul anterior ia naştere o formaţiune numită *prelungire cefalică* care nu ajunge însă la punctul extrem (fig. 5.3). Înainte ca linia primitivă să fi ajuns la limita ei maximă, pe părţile sale laterale, are loc o proliferare celulară care se îndreaptă spre laturile discului între ectoblast şi endoblast, structurând în acest mod, mezoblastul şi embrionul intră în stadiul tridermic.

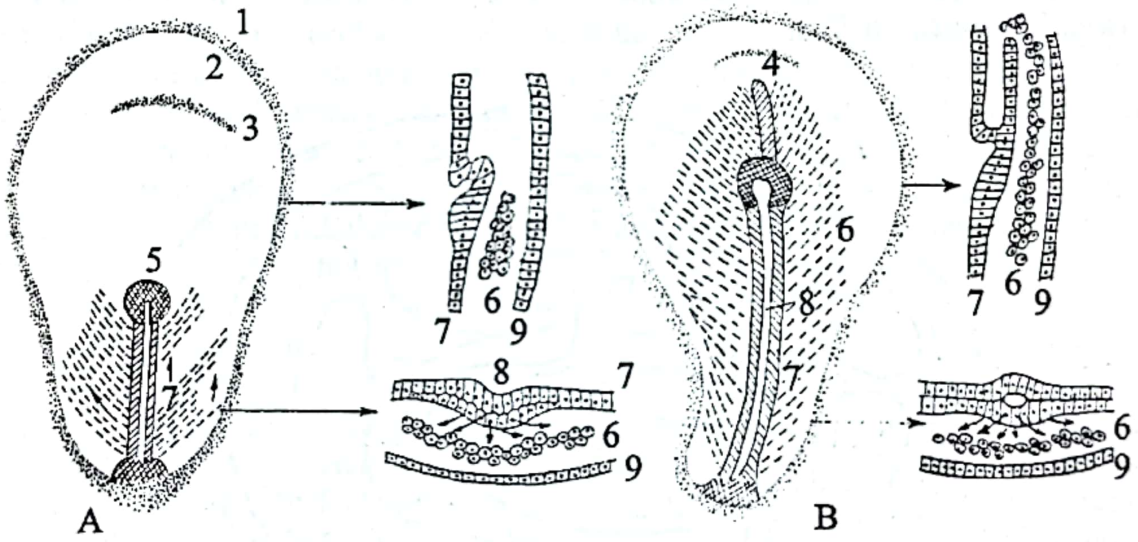


Fig. 5.3. ***Stadii succesive în evoluţia gastrulei la păsări*:** 1-aria opacă; 2-aria pelucidă; 3-semiluna gonocitară; 4-prelungire cefalică; 5-nodulul anterior; 6-mezoblast; 7-linia primitivă; 8-şanţul liniei primitive; 9-endoblast.

În partea anterioară a extremităţii cefalice, în aria extraembrionară vasculară, apare o formaţiune de aspect semilunar numită *semiluna gonocitară* (con germinativ), constituind locul de diferenţiere a celulelor gonocitare la pasăre.

După 20 ore de la incubaţie, mezoblastul devine compact şi începe să se segmenteze, în acest mod rezultă somitele. Fiecare somită va cuprinde trei porţiuni : *dermatom* (din care va lua naştere dermul şi hipodermul pielii), *sclerotom* (din care va lua naştere scheletul) şi *miotom* (din care va lua naştere musculatura). Cele trei foiţe embrionare, endo-, ecto- şi mezoblastul, odată formate se vor extinde şi în aria extraembrionară unde vor forma cele trei foiţe embrionare. Ele devin definitive şi se

Scanned with OKEN Scanner

mai numesc endo-, ecto- şi mezoderm. Din acestea se vor diferenţia ţesuturi şi organe asemănătoare mamiferelor.

În aria extraembrionară va avea loc apariţia primordiilor vasculare care vor alcătui circulaţia vitelină. Aceste primordii apar la suprafaţa sacului vitelin, într-o zonă limitrofă ariei embrionare. Iniţial în această zonă apar câteva zone întunecate, izolate unele de altele, zone care reprezintă insulele lui *Wolff* şi *Pander*, care se înmulţesc realizând la periferia ariei embrionare o zonă vasculară *(aria vasculară extraembrionară)*. La nivelul acestei arii, ulterior se organizează o reţea vasculară şi elementele figurate ale sângelui. După apariţia *sistemului vascular extraembrionar de tip vitelin,* se va definitiva structurarea sistemului vascular embrionar şi contactul dintre aceste două sisteme. Calea de aport este realizată prin două vase viteline, iar calea de export prin două artere viteline.

5.3. Anexele embrionare la păsări

Gastrulaţia la păsări duce la formarea embrionului ca atare şi la formarea unei arii extraembrionare, în care se vor organiza o serie de anexe embrionare, cu adaptări proprii ale embrionului în legătură cu dezvoltarea oului în mediul aerian (fig. 5.4). Anexele embrionare sunt : *amniosul, vezicula vitelină, alantoida* şi *corionul (seroasa lui Bäer)*.

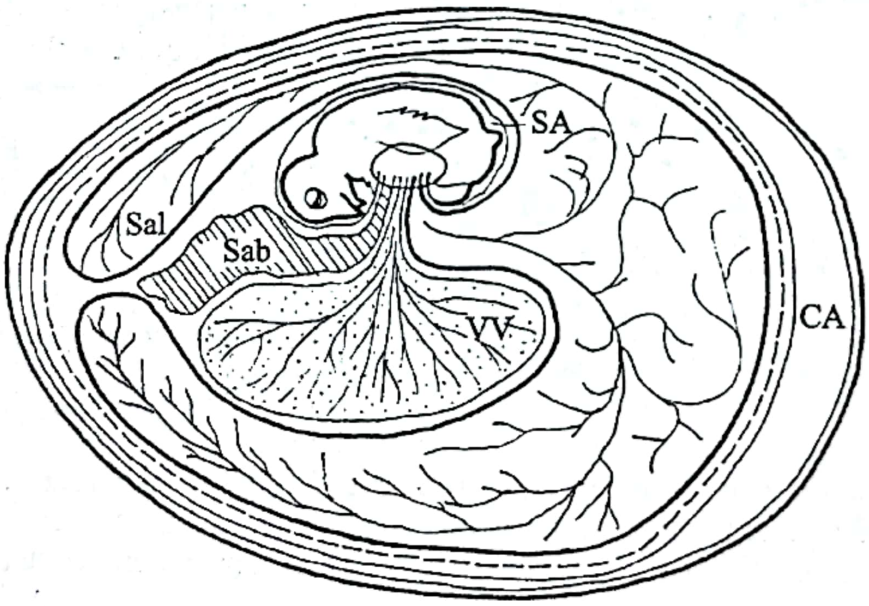


Fig. 5.4. ***Anexele embrionare la păsări*** : VV-vezicula vitelină ; SA-sacul amniotic ; Sab-sacul albuminic ; Sal-sacul alantoidian ; CA-camera cu aer.

5.3.1. Amniosul

Se formează ca şi la mamifere prin invaginarea ectodermului şi prin participarea unei foiţe din mezodermul extraembrionar (respectiv *somatopleura extraembrionară)*. La toate speciile de păsări, amniosul se formează încă din a doua zi de incubaţie şi este complet închis în a treia zi la găină şi raţă şi în a patra zi la

Scanned with OKEN Scanner

curcă şi gâscă. Amniosul ia naştere din partea interioară a unirii celor patru pliuri amniotice. Prin procesul de adâncire a embrionului, pliurile ajung să vină în contact, realizând un spaţiu etanş, numit *cavitate amniotică* plină cu *lichid amniotic* în care pluteşte embrionul. Amniosul este despărţit de corion (seroasa lui Bäer) printr-un spaţiu larg numit *celom extraembrionar.* Amniosul asigură protecţia embrionului prin intermediul lichidului amniotic, contra eventualelor acţiuni mecanice (asemănător cu rolul de la mamifere) şi nutriţia embrionului cu albuş deoarece sacul cu albumen fiind înconjurat de *seroasa lui Bäer* şi unit cu amniosul prin canalul seroamniotic, ajută la transferul de albuş în cavitatea amniotică, iar de aici, acesta este deglutit de către embrion. Amniosul se dezvoltă în primele 11 zile de incubaţie, după care începe treptat să regreseze, pe când seroasa lui Bäer este prezentă până la ecloziune, când este spartă de pui prin ciocnire.

5.3.2. Vezicula vitelină

În momentul când s-a format amniosul, cuta trunchiului duce la formarea unei vezicule viteline, a cărei pereţi sunt formaţi din endoderm la interior şi splanchnopleură la exterior. Intestinul embrionului se continuă în aria extraembrionară cu *sacul vitelin* prin canalul vitelin care este situat în interiorul unui pedicul, care suspendă embrionul de sacul vitelin. Endodermul vitelin emite o serie de vilozităţi prin care se face absorbţia substanţelor nutritive conţinute în vitelus. În lama mezoblastică a veziculei viteline se dezvoltă o reţea puternică de vase *(insulele lui Wolff şi Pander)* care constituie primordiile vaselor sanguine. Vezicula vitelină este anexa embrionară cea mai importantă, mai ales în prima perioadă de incubaţie. În interiorul veziculei viteline, se află înglobat gălbenuşul oului, respectiv vitelusul (de aceea se numeşte şi *veziculă vitelină)*, care va asigura nutriţia embrionului prin circulaţia vitelină.

5.3.3. Alantoida

Odată cu dezvoltarea alantoidei, rolul nutritiv şi respirator al vezicii viteline este preluat de alantoidă. Această anexă se dezvoltă în porţiunea caudală a intestinului, în peretele ventral, sub forma unei invaginări ca un deget de mănuşă ce pătrunde între sacul vitelin şi *seroasa Bäer.* În a patra zi de incubaţie, tubul alantoidian părăseşte sfera embrionară intrând în sfera extraembrionară, rămânând legat de endodermul intestinal printr-un pedicul străbătut de *canalul urac.* În a şasea şi a şaptea zi de incubaţie, are loc fuziunea dintre alantoidă şi *seroasa lui Bäer*. Alantoida mărindu-se , va înconjura amniosul şi va pătrunde în spaţiul dintre amnios şi *seroasa lui Bäer*, ajungând sub nivelul părţii ventrale a embrionului, înconjurând în cele din urmă şi sacul vitelin. În mezodermul splanchnic al alantoidei se dezvoltă o reţea vasculară care se va pune în legătură cu vasele viteline, pe care le va înlocui realizând o a doua circulaţie *(circulaţia alantoidiană),* care se va racorda la circulaţia embrionară. Rolurile alantoidei la păsări sunt foarte importante în a doua jumătate a incubaţiei, asigurând : protecţia embrionului prin lichidul alantoidian ; rolul nutritiv în consumarea albuşului prin intermediul vilozităţilor alantoidiene ; excreţia metaboliţilor prin canalul urac (asemănător mamiferelor) şi respiraţia embrionului prin intermediul circulaţiei alanto-coriale, începând cu ziua a şasea de incubaţie.

Scanned with OKEN Scanner

5.3.4. Corionul (seroasa lui Bäer)

Această anexă embrionară este cea mai puţin importantă dintre toate anexele embrionare la păsări. Ea se formează foarte timpuriu, odată cu amniosul din partea externă a fuzionării celor patru pliuri amniotice, fiind deci de origine extraembrionară (ectodermică şi parţial mezodermică). Pe măsură ce se dezvoltă alantoida, seroasa lui Bäer este împinsă tot mai la exterior, încât ajunge imediat sub membranele cochiliere, venind în contact şi cu alantoida formând *alanto-corionul,* care se menţine până la ecloziune şi este rupt cu ciocul puiului în timpul când perforează membranele cochiliere şi sparge coaja subţiată a oului. Împreună cu alantoida, corionul prin circulaţia alanto-corială participă parţial la respiraţia embrionului.

Scanned with OKEN Scanner

HISTOLOGIE GENERALĂ

Ţesuturile sunt *complexe morfofuncţionale* alcătuite din celule mono- sau polimorfe şi din substanţă interstiţială (intercelulară). Ţesuturile au origine diferită (din cele trei foiţe embrionare), funcţii variate, activitatea lor fiind dependentă de sistemul nervos, şi în cele mai multe cazuri şi de sistemul endocrin. Unele ţesuturi (epitelial, conjunctiv) au proprietăţi plastice ; prin *metaplazie* se pot trasforma în diferite tipuri şi varietăţi. Regenerarea fiziologică şi reparatorie este posibilă numai pentru ţesutul epitelial şi cel conjunctiv.

Prin asociere, ţesuturile formează complexe funcţionale : *organe, aparate, sisteme,* în cadrul cărora, ca şi în cazul organismului în totalitate, fiecare ţesut îşi păstrează particularităţile morfofiziologice.

Ţesuturile se pot clasifica în : *epiteliale, conjunctive, sanguin, musculare, ţesut nervos* şi *ţesut glial.*

1. ŢESUTUL EPITELIAL

Epiteliile (de la grec. *epi* = peste, pe deasupra şi *thele* = ridicătură, sfârc, mamelon, denumire dată de Ruisch în secolul XVIII) sunt formate aproape în exclusivitate din celule de formă regulată (aplatizate, poliedrice, prismatice), aderente unele de altele prin plasma interstiţială (substanţa amorfă) dispusă în spaţiile intercelulare.

Ţesutul epitelial constituie fie membrane continui, uni- sau multistratificate, ce acoperă exteriorul organismului sau tapetează cavităţile seroase, organele cavitare, cordul, vasele sanguine şi limfatice, fie aglomerări compacte în organele glandulare. În structura segmentului periferic al unor analizatori există celule epiteliale specializate în recepţionarea stimulilor. În mod convenţional, membranele epiteliale care delimitează cavităţile – abdominală, pleurală, pericardică – sunt denumite *mezotelii* (gr. *mezon* = din mijloc). Cele din interiorul cordului, vaselor sanguine şi vaselor limfatice sunt denumite *endotelii* (gr. *endon* = înăuntru). *Mezoteliile* fiind alcătuite din straturi continuie de celule strâns alăturate, sunt membrane epiteliale tipice, în ciuda denumirii lor speciale intrate în uzul curent.

Luând în considerare funcţia îndeplinită, epitelile pot fi grupate în : *epitelii de acoperire, epitelii glandulare, epitelii senzoriale, mioepitelii.*

1.1. Histogeneza

Epiteliile derivă din cele trei foiţe embrionare :

Din *ectoderm* se formează : epiderma pielii şi anexele sale (părul, fanerele, glandele sebacee şi sudoripare) ; canalele şi parenchimul glandei mamare ; glandele salivare, epiteliul bucal şi anal ; smalţul dentar ; epiteliul senzorial al urechii interne, retina, mucoasa olfactivă ; epiteliul corneean şi epiteliul cristalinian, epiteliul mucoasei nazale ; hipofiza, epifiza, medulosuprarenala.

Scanned with OKEN Scanner

Mezodermul dă naştere la : epiteliile rinichiului şi ale gonadelor ; *mezoteliu,* (epiteliul ce căptuşeşte cavitatea pericardică, pleurală şi peritoneală) ; *endoteliu,* (epiteliul ce căptuşeşte vasele sanguine şi limfatice) ; corticosuprarenala. Din mezoderm derivă multe epitelii cu caracteristici speciale. De exemplu, celulele *corticosuprarenalei, celulele Leydig* din testicul, *celulele luteale* din ovar.

Celulele secretorii menţionate se diferenţiază din celulele mezenchimale (*mezenchim = ţesutul conjunctiv nediferenţiat embrionar*), localizate profund. Procesul de diferenţiere implică agregarea acestor celule mezenchimale pentru a forma *aglomerări epiteliale.* Totuşi, celulele diferenţiate nu ajung să capete o localizare de suprafaţă. *Endoteliul* şi *mezoteliul* au o suprafaţă liberă, dar diferită de epiteliile derivate din celelalte două foiţe embrionare prin aceea că neavând continuitate sau comunicare cu exteriorul, suprafaţa lor liberă vine în contact cu mediul intern.

Endoteliul are o funcţie de epiteliu de acoperire a suprafeţei interne a peretelui vaselor. Datorită originii sale mezenchimale şi proprietăţilor sale, celula endotelială este considerată în ultimul timp *celulă conjunctivă.* Conform acestei orientări, ea va fi descrisă la celulele ţesutului *conjunctiv.*

Endodermul formează : epiteliul aparatului respirator, cu excepţia mucoasei nazale, de origine ectodermică ; epiteliul tubului digestiv, cu excepţia epiteliului cavităţii bucale şi al canalului anal, care sunt de origine ectodermică ; epiteliul tuturor organelor şi glandelor asociate tubului digestiv ca : ficat, pancreas, veziculă biliară ; glanda tiroidă şi glanda paratiroidă ; epiteliul cavităţii timpanice şi al tubei auditive ; epiteliul timusului. Tiroida şi paratiroida, spre deosebire de celelalte glande endocrine care derivă din mezenchim, se dezvoltă ca o expansiune epitelială a peretelui faringian, care, în cursul dezvoltării, pierde legătura cu locul său de origine. În mod similar, timusul se formează ca o expansiune epitelială a peretelui faringian, se dezvoltă în mediastin, apoi îşi pierde legăturile cu locul de origine.

1.2. Epitelii de acoperire

1.2.1. Clasificare

Îşi au originea atât în cele trei foiţe embrionare, cât şi în mezenchim. Iniţial, epiteliile de acoperire sunt alcătuite dintr-un singur strat celular ; ulterior, sub acţiunea influenţelor variate mecanice, chimice, hormonale şi sub inducţii variate din partea mezenchimului învecinat, structura epiteliilor se diversifică. Din această cauză, în clasificare se recurge mai ales la criteriul morfologic (tabelul 1.1), conform căruia acestea se împart în : *epitelii simple* (monostratificate), formate dintr-un singur strat de celule, fiecare celulă fiind în contact, la bază, cu o membrană subţire - membrana bazală ; *epitelii stratificate* (pluristratificate), formate din cel puţin două straturi suprapuse, celulele stratului profund fiind singurele care vin în contact cu membrana bazală. Denumirea epiteliilor simple rezultă din forma pe care o au celulele, iar pentru cele stratificate denumirea este dată de forma celulelor superficiale ;

Epitelii pseudostratificate, care conţin un singur rând de celule de diferite înălţimi, a căror pol bazal se sprijină pe membrana bazală. Nucleii celulelor apar la diferite înălţimi, de aici falsa stratificare, de unde le derivă şi numele de *pseudostratificate.*

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.1 *Tipuri de epitelii de acoperire*

După numărul straturilor	După forma celulelor	Exemplu de localizare	Funcții
Simple (un strat)	Scuamos (pavimentos)	Endoteliile Mezoteliile Epiteliul capsulei Bowmann Epiteliul alveolar Ansa Henle din rinichi	- Facilitează mișcările viscerelor (mezoteliile) - Transportul activ prin pinocitoză (endoteliile)
	Cubic	Canalele secretorii ale glandelor salivare Suprafața ovarului	Acoperire, secreție
	Prismatic	Epiteliul stomacului Epiteliul intestinal Epiteliul veziculei biliare	Protecție, lubrifiație, absorbție, secreție
Pseudostratificat (toate celulele se sprijină pe membrana bazală, dar au diferite înălțimi, de aici așezarea nucleilor la diferite niveluri)		Epiteliul traheal, bronșic și al cavității nazale Epiteliul epididimar	Protecție, transportul particulelor în afara căilor respiratorii, secreție
Stratificate (două sau mai multe straturi)	Pavimentos Scuamos (keratinizat uscat)	Epiderma Epiteliul bucal, faringean, esofagian la rumegătoare	Protecție, prevenirea pierderii apei
	Pavimentos Scuamos (nekeratinizat, moale)	Esofag, vagin, canal anal	Protecție
	Cubic	Celulele foliculare din foliculii ovarieni, canalele glandelor sudoripare	Protecție, secreție
	Uroteliu (epiteliu de tranziție)	Vezica urinară, ureterul, calicele renale, bazinetul	Protecție, distensie
	Prismatic	Conjunctiva palpebrală	Protecție

Scanned with OKEN Scanner

1.2.2 Caractere generale

Epiteliile de acoperire reprezintă ţesuturi celulare, cu o cantitate extrem de redusă de substanţă intercelulară (neavând rol morfologic). Între celule se stabilesc raporturi de contiguitate şi o aderenţă puternică, fapt ce asigură rezistenţa mecanică solicitată de funcţia de acoperire şi protecţie. Aderenţa intercelulară se realizează prin conjugarea acţiunii factorilor fizici, chimici, efectul adeziv al substanţei intercelulare, existenţa unor transformări speciale ale plasmalemei la locurile de contact (joncţiuni de *adezivitate – desmozomi*, joncţiuni *impermeabile* ; joncţiuni de *comunicare – GAP* ; *complexe joncţionale*).

Joncţiunile nu sunt definitive ; ele se desfac şi refac cu uşurinţă, permiţând alunecarea celulelor pe membrana bazală (la epiteliile monostratificate), deplasarea lor din profunzime spre suprafaţă (la epiteliile pluristratificate), precum şi desprinderea totală din epiteliu a celulelor involuate.

Celulele epiteliale conţin în citoplasmă la ME, *microfilamente intermediare* cu diametrul de 10 nm, formate din proteine asemănătoare keratinei din păr şi ongloane, numite *citokeratine*.

Epiteliile *sunt lipsite de vase sanguine şi limfatice*, oxigenul şi substanţele nutritive fiind furnizate, prin difuziune, de către ţesutul conjunctiv subiacent, bogat vascularizat de care sunt separate printr-o *membrană bazală (lamina bazală)*. În cazul epiteliului corneean anterior, cu *lamina bazală Bowmann* şi respectiv cel posterior, cu *lamina bazală Descemet-Demours*, aceste două lamine bazale sunt foarte groase, vizibile la MO.

La baza altor epitelii, lamina bazală este foarte subţire (50-100 nm), evidenţiabilă prin tehnici speciale (impregnări argentice şi reacţia PAS). În cazul altor epitelii (epiteliul uterin, al vezicii urinare, foliculilor tiroidieni), membrana bazală este subţire sau discontinuă. Endoteliile capilarelor sinusoidale şi al chiliferului central din vilozitatea intestinală sunt lipsite de lamina bazală. La microscopul electronic laminele bazale apar osmiofile, uneori amorfe sau cu structură fibrilară, datorită unei reţele de reticulină care dublează lamina pe faţa dinspre ţesutul conjunctiv (lamina lucida). Între epiteliu şi lamina bazală există un spaţiu clar, de aproximativ 10 nm, care se continuă cu spaţiile dintre celulele epiteliale, în care circulă plasmă interstiţială. Celulele epiteliale sunt ataşate de lamina bazală prin *hemidesmozomi*. În acest mod lamina bazală solidarizează celulele epiteliale între ele şi, totodată, le ataşează de ţesutul conjunctiv subiacent.

Laminele bazale intervin activ în procesul de permeabilizare, în metabolismul epiteliilor şi al ţesutului conjunctiv, fiind » *filtre*» selective pentru trecerea de lichide şi diverşi metaboliţi din ţesutul conjunctiv spre epitelii, şi invers. Gradul de permeabilizare este dependent de starea de poli- şi depolimerizare a complexelor proteino-glicoprotidice din structura lor şi este reglat de factori locali (enzimatici) şi generali (endocrini, metabolici, toxici). În privinţa originii, se consideră că laminele bazale constituie modificări locale ale substanţei fundamentale conjunctive, sub acţiunea inductoare a celulelor epiteliale ; există şi dovezi experimentale care justifică originea ei epitelială.

Epiteliile simple sunt dispuse pe o *suprafaţă de ţesut conjunctiv plană*, iar cele stratificate pe una foarte sinuoasă, formând *papile* care se întrepătrund cu

Scanned with OKEN Scanner

stratul conjunctiv. Prezenţa papilelor asigură joncţiunea epitelio-conjunctivă foarte strânsă şi ameliorează nutriţia şi respiraţia prin mărirea suprafeţei de schimb. Plasma transsudată din capilarele ţesutului conjunctiv trece cu uşurinţă prin lamina bazală, iar prin spaţiile intercelulare şi transcelulare se distribuie la toate celulele. Pe aceeaşi cale, produşii de catabolism sunt drenaţi spre reţelele vasculare din lamina propria sau derm (fig. 1.1).

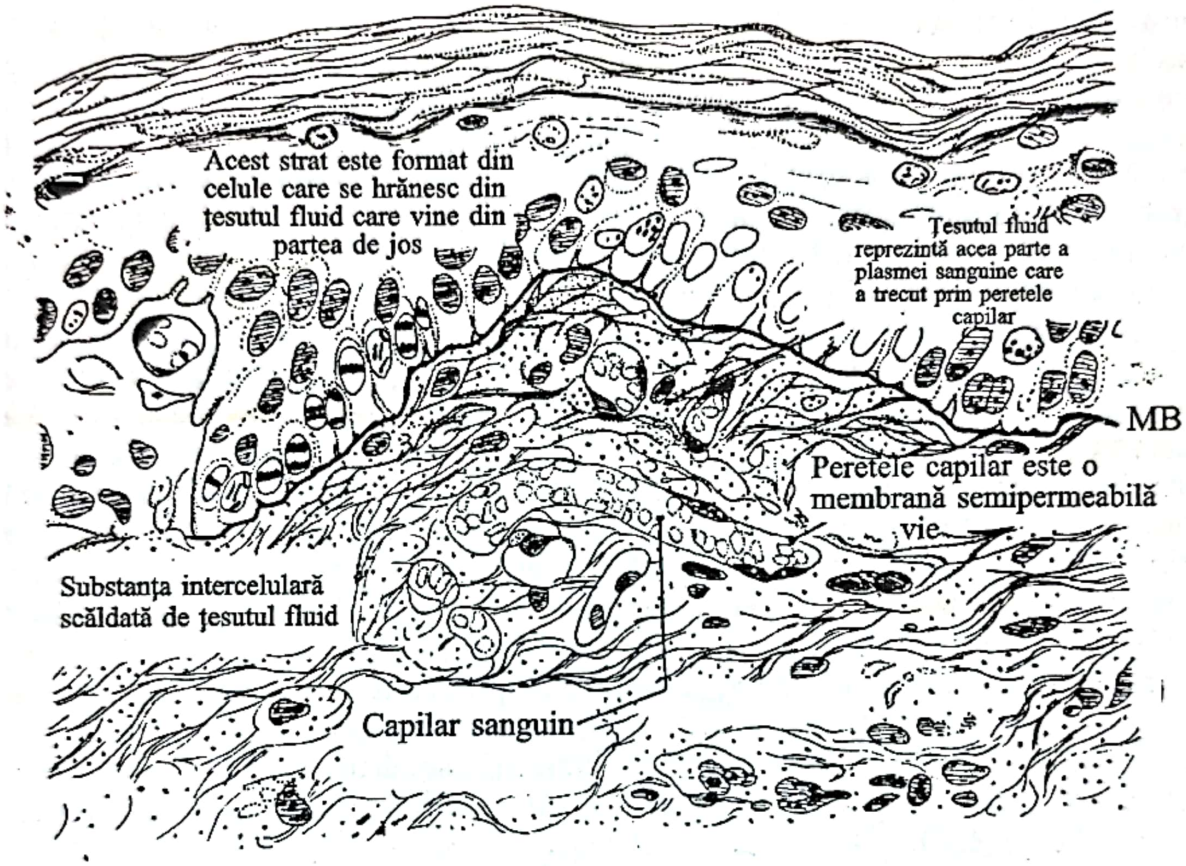


Fig. 1.1 ***Membrana bazală (lamina bazală) (MB) a epidermei ce se sprijină pe un derm foarte vascularizat.***

Un rol important în metabolismul celulelor epiteliale îl are vitamina A : hipo- şi avitaminoza A provoacă transformări metaplazice sau degenerative, urmate de cheratinizarea epiteliilor.

Unele epitelii (ale căilor genitale femele) reprezintă » *ţesuturi ţintă*», asupra metabolismului cărora îşi exercită funcţia reglatoare anumiţi hormoni.

Inervaţia epiteliilor, bogată, este asigurată de ramuri ale plexurilor nervoase subepiteliale, care după ce străbat lamina bazală îşi pierd teaca de mielină şi se ramifică la suprafaţa celulelor. Fibrele nervoase pot fi receptoare (senzitive) sau efectoare (pentru celulele secretorii).

Celulele epiteliale au o viaţă relativ scurtă în epiteliile în care solicitările funcţionale sunt intense (intestinal, epidermă), fiind permanent înlocuite cu celule tinere provenite prin diviziunea celulelor epiteliale preexistente. Intensitatea procesului de reînnoire celulară a diferitelor epitelii este variabilă.

Scanned with OKEN Scanner

În majoritatea epiteliilor există două tipuri celulare : a) *celule tinere, nediferenţiate* (celule generatoare), ce se multiplică activ prin mitoză ; b) *celule diferenţiate,* specializate funcţional (celulele caliciforme, ciliate, cheratinizate etc.), provenite din precedentele. În epiteliile simple, capacitatea multiplicării există, practic, în oricare din celulele adulte ; în cele pseudostratificate (la căile respiratorii etc.), regenerarea este asigurată de *celule cubice* mici aşezate printre celulele prismatice, iar în epiteliile care *prezintă invaginări glandulare tubulare* (stomac, intestin, uter etc.) zona de regenerare este circumscrisă la gâtul glandei. Înlocuirea celulelor moarte se face prin »alunecarea» pe lamina bazală a celulelor învecinate, acestea fiind împinse, la rândul lor, de presiunea de creştere din zonele de regenerare. Zona generatoare a epiteliilor stratificate este reprezentată de celulele din *stratul bazal* şi în măsură mai mică, de stratul parabazal. Celulele sunt astfel mereu împinse spre straturile superioare, prezentând pe parcurs o diferenţiere gradată şi complexă (morfologică, structurală, biochimică). Ajunse la suprafaţă, după un anumit timp involuează şi se desprind (*descuamare* şi *exfoliere*).

Ca urmare a poziţiei lor limitante (interpuse între mediul exterior sau lumenul organelor cavitare şi ţesutul conjunctiv), cele două suprafeţe ale epiteliilor de acoperire sunt supuse unor condiţii diferite. În consecinţă, suprafaţa celulară apicală prezintă adaptări funcţionale diferite de cele de pe suprafaţa bazală. Astfel de adaptări ale suprafeţei apicale sunt : *condensări* sub formă de cruste care impermeabilizează epiteliul şi împiedică resorbţia unor produşi toxici (epiteliul vezicii urinare) ; *cuticula* prin impregnare cu săruri minerale, chitină etc. dobândeşte o consistenţă foarte crescută (smalţul dentar elaborat de adamantoblaste, cuticula stomacului triturator la păsări) ; *expansiuni membrano-citoplasmatice* pentru funcţii diferite : *cili, flageli, platoul striat, margine în perie* ş.a. (amănunte despre aceste modificări s-au prezentat la Biologia celulară).

Se obişnuieşte ca la denumirea unui epiteliu să se adauge şi aceea a diferenţierii polare (ex. : epiteliu simplu prismatic *cu platou striat,* epiteliu pseudostratificat prismatic *ciliat* etc.).

În rezumat, caracteristicile comune epiteliilor de acoperire pot fi sistematizate astfel :

1) – sunt constituite în întregime din celule, care se ating pe suprafeţe mari, realizând o adezivitate puternică între ele prin *joncţiuni celulare,* ce conferă continuitatea şi rezistenţa necesare funcţiei de înveliş şi protecţie ;

2) – nu sunt vascularizate, ele hrănindu-se prin imbibiţie, cu substanţele nutritive transvazate din capilarele sanguine ale ţesutului conjunctiv subiacent ;

3) – sunt ataşate şi legate ferm de ţesuturile conjunctive pe care le acoperă prin intermediul *laminelor bazale* cu rol de filtru selectiv ;

4) – regenerează prin diviziuni celulare (în epiteliile formate din mai multe straturi de celule, *cel bazal* este *stratul generator* unde se remarcă numeroase mitoze) ;

5) – când au rol de protecţie sunt formate din mai multe rânduri de celule (epiteliul bucal, epiteliul urinar, vaginal şi epiderma) ;

6) – când au funcţie de absorbţie şi filtrare, epiteliile sunt constituite numai dintr-un singur rând de celule, care de cele mai multe ori, sunt prevăzute la polul apical cu *platou striat (enterocitul)* sau *margine în perie (nefrocitul)* ;

Scanned with OKEN Scanner

– pentru epiteliul de acoperire ce vine în contact direct cu aerul, caracteristic este procesul de cheratinizare al celulelor din straturile superficiale ale epidermei.

1.2.3. Tipuri de epitelii de acoperire

1.2.3.1. Epitelii simple (unistratificate)

Epiteliul simplu pavimentos. Cuprinde *mezoteliul* (epiteliul seroaselor cavitare : pleură, peritoneu, pericard ; epiteliul seroaselor ligamentare : mezenter, epiploon) şi *endoteliul* (epiteliul cavităţilor cordului, al vaselor sanguine şi limfatice), care sunt foarte extinse ; epiteliul capsulei Bowmann din rinichi ; epiteliul alveolar ; epiteliul ansei Henle, porţiunea descendentă din structura tubului urinifer ; epiteliul labirintului membranos al urechii interne ; epiteliul corneean posterior.

Mezoteliile sunt epitelii ale căror celule, prin impregnaţie argentică, apar poligonale, cu conturul crenelat, strâns alăturate (precum pietrele unui pavaj), cu nucleul turtit şi citoplasma cu numeroase vezicule de pinocitoză. La microscopul electronic suprafaţa liberă a celulelor prezintă microvilozităţi cu funcţie de resorbţie (funcţia se amplifică mult în colecţiile patologice : exsudate, transsudate). Microvilozităţile sunt prezente şi pe faţa bazală, în spaţiul îngust dintre mezoteliu şi lamina bazală.

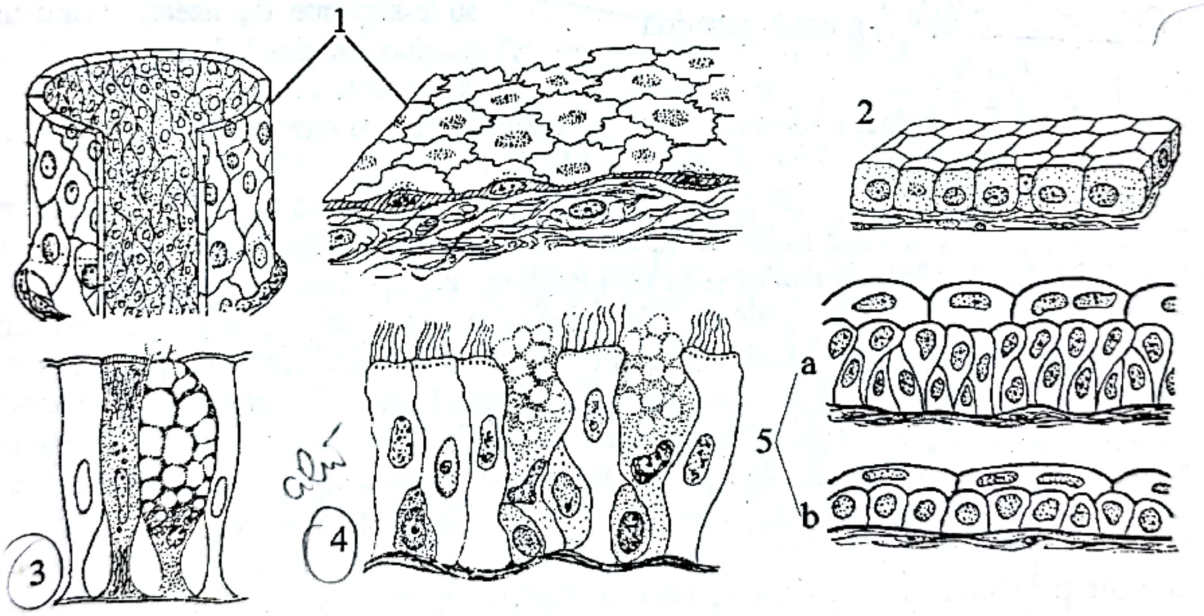


Fig. 1.2. ***Epitelii de acoperire*** : 1 – epiteliul pavimentos simplu *(endoteliu)* ; 2 - epiteliul cubic simplu ; 3 - epiteliul prismatic simplu cu platou striat ; 4 - epiteliul pseudostratificat ciliat ; 5 - epiteliul pavimentos stratificat de tip urinar (a – în relaxare ; b – în extensie).

În condiţii normale, mezoteliul este străbătut de către celulele mobile ale *sistemului macrofagic monocitar* (SMM), care, trecând exclusiv prin spaţiile intercelulare, temporar deschise, ajung în cavităţile seroase. În poliserozite, migrarea devine masivă ; la procesul de apărare participă şi celulele mezoteliului, care se desprind din epiteliu devenind celule fagocitare.

Scanned with OKEN Scanner

Endoteliile reprezintă o barieră activă situată între sânge (sau limfă) şi mediul interstiţial în care îşi desfăşoară viaţa celulele. Suprafaţa endoteliilor la un animal de 70-80 kg este apreciată ca fiind de 7300 m² (aproximativ 7,3 kg).

Celulele endoteliului unui vas sanguin sau limfatic sunt poligonale (fig. 1.2), cu contur neregulat, adaptate pentru a permite trecerea cu uşurinţă a lichidelor şi gazelor (2-3 μm grosime în porţiunea în care se află nucleul, 0,1-0,3 μm în rest). Suprafaţa celulară prezintă numeroase microvilozităţi atât spre lumen, cât şi spre spaţiul subendotelial. Citoplasma prezintă caracteristic un mare număr de vezicule de pinocitoză. Majoritatea endoteliilor constituie un *tapet continuu*; există însă endotelii fenestrate ale căror celule prezintă fie *pori transcelulari* de 70 nm (capilarele de tip *fenestrat* din corpusculul Malpighi din rinichi), fie *spaţii mai largi intercelulare* la capilarele de tip *sinusoid* din glandele endocrine, ficat şi organele hematopoetice. Endoteliile sunt dispuse pe o *lamină bazală* şi sunt separate de aceasta printr-un spaţiu subendotelial foarte îngust, de 10-15 nm.

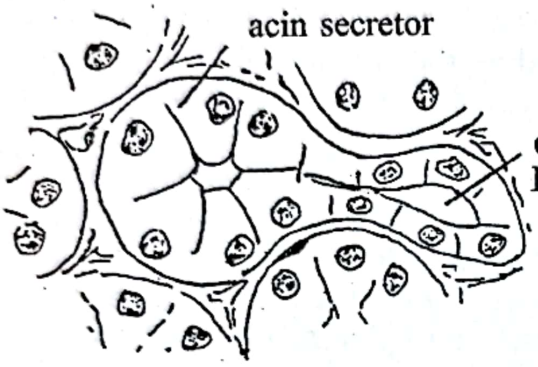


Fig. 1.3. ***Epiteliul simplu cubic***
Canaliculul Boll din glanda parotidă

Histofiziologic, endoteliile sunt permeabile pentru gazele şi substanţele din capilare spre ţesuturi, şi invers.

Epiteliul simplu, cubic. Este format din celule cubice cu rol de acoperire, protecţie şi secreţie. Intră în structura canalelor mici (Boll) excretoare ale glandelor (fig. 1.3), în plexurile coroide, şi se mai evidenţiază la suprafaţa ovarelor.

Epiteliul simplu, prismatic. Este format din celule prismatice, cu nucleul ovoid situat în jumătatea bazală a celulei. Spaţiile intercelulare, spre polul apical, sunt închise prin joncţiuni impermeabile. De aceea, în epiteliile absorbante procesul de absorbţie este posibil doar transcelular. Celulele se ancorează de lamina bazală prin *hemidesmozomi*. Celulele epiteliilor simple, prismatice prezintă o polarizare funcţională foarte pronunţată, *polul apical* fiind prevăzut cu *platou striat* (epiteliul intestinal, epiteliul veziculei biliare etc.), cu *»margine în perie»* (epiteliul tubului contort proximal al nefronului), cu *cili mobili* (epiteliul oviductului, uterului şi bronhiolelor). Tot epiteliul prismatic simplu se evidenţiază în *canalele excretoare Pflüger* ale glandelor exocrine (fig. 1.4).

Epiteliul pseudostratificat. Este în realitate un epiteliu simplu, anizomorf, deoarece toate celulele sale iau contact cu lamina bazală. Falsa impresie de stratificare rezultă din faptul că celulele sunt situate la nivele diferite. Epiteliul pseudostratificat tapetează cea mai mare parte a căilor respiratorii (trahee, bronhii) (fig. 1.5).

Scanned with OKEN Scanner

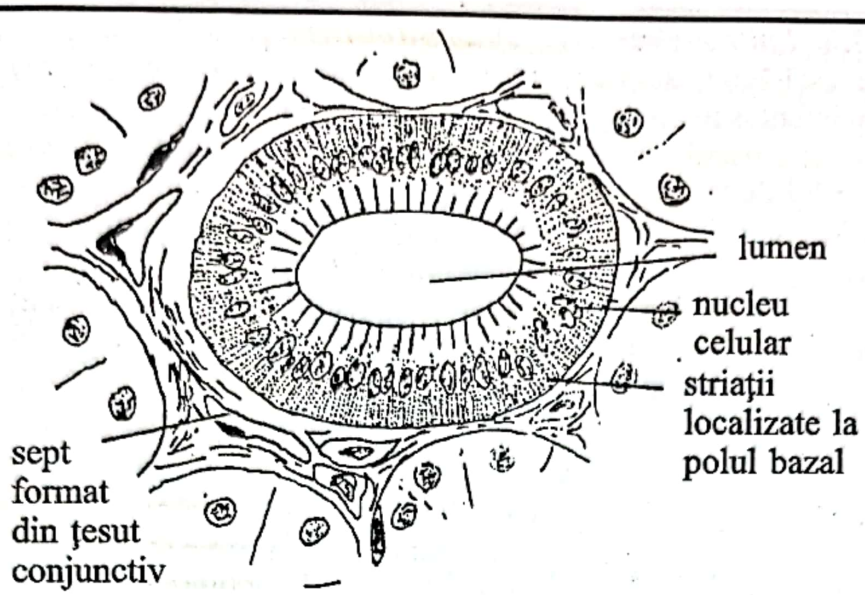


Fig. 1.4. ***Epiteliul simplu prismatic din canalul excretor Pflüger al glandelor exocrine***

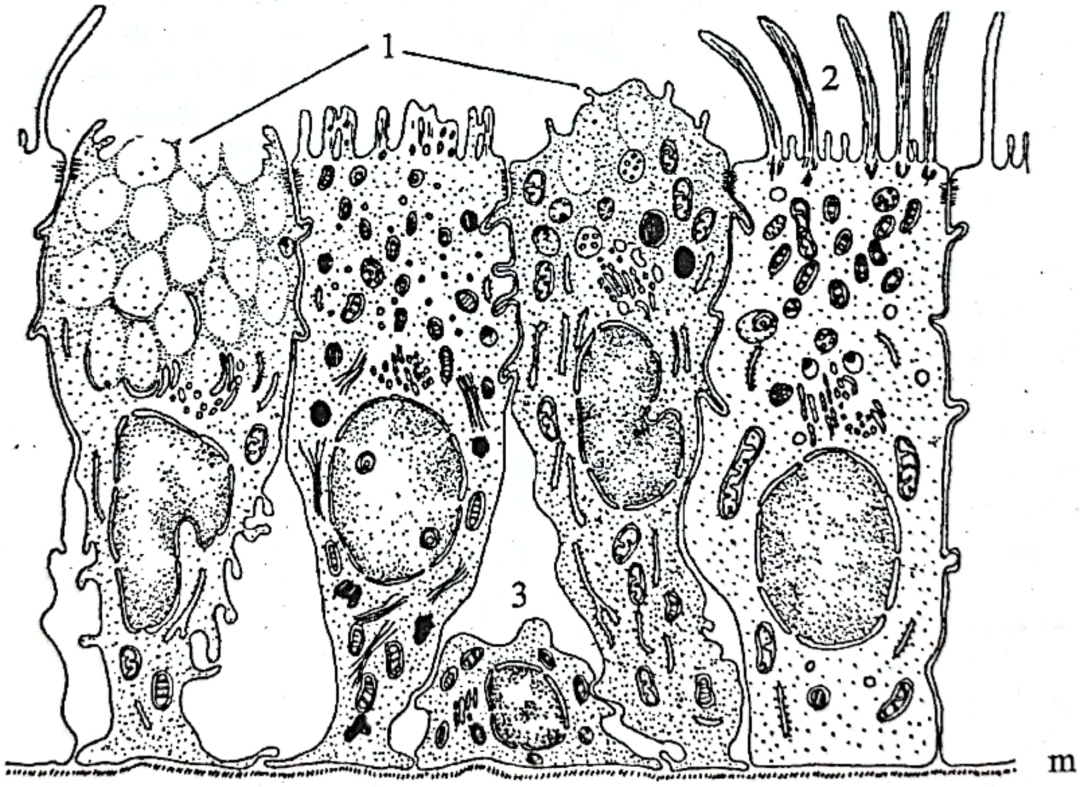


Fig. 1.5. ***Epiteliul pseudostratificat ciliat la ME***: 1-diferite faze ale secreţiei în celula caliciformă; 2 - celula ciliată; 3 - celula bazală (de înlocuire); m – lamina bazală.

1.2.3.2. Epitelii stratificate (pluristratificate)

În această grupă sunt cuprinse mai multe varietăţi de epitelii (pavimentos, prismatic, pavimentos urinar – *uroteliu* etc.) constituite din celule anizomorfe dispuse pe mai multe straturi suprapuse. Tipul de epiteliu stratificat este definit de forma celulelor stratului de la suprafaţă.

Epiteliul stratificat pavimentos. Există sub două tipuri : *keratinizat* şi *nekeratinizat*.

Epiteliul stratificat pavimentos keratinizat (epiteliul mucoasei bucale, al faringelui, esofagului la rumegătoare, rozătoare şi păsări, al prestomacelor la rumegătoare), epidermul este constituit dintr-o *zonă profundă*, din celule vii, formată din *stratul bazal* (generator) şi din stratul *mucos (spino-celular)* şi o zonă superficială, structurată din celule involuate sau moarte, prezentând grade diferite de cornificare sau keratinizare.

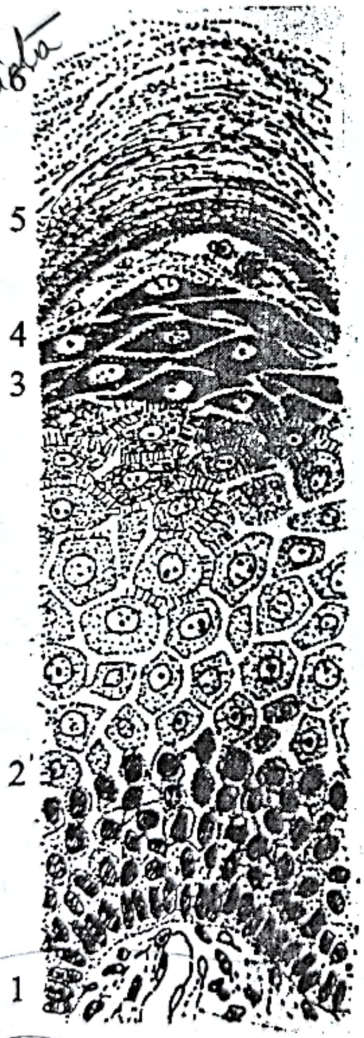


Fig. 1.6. ***Epiteliul pavimentos stratificat keratinizat*** :
1-generator ; 2-mucos Malpighi ; 3-granular Unna ; 4-lucidum ; 5-cornos ; 6-descuamant.

Epiteliul stratificat pavimentos keratinizat (epiderma) este prima foiţă a pielii, în contact direct cu exteriorul. Din această cauză el suferă anumite modificări, în sensul că celulele se keratinizează pentru a asigura rolul de protecţie (fig. 1.6). Este format din şase straturi : *generator, mucos al lui Malpighi, granular al lui Unna, strălucitor (lucidum), cornos şi descuamant.* Acest din urmă strat reprezintă scuamele care se desprind de la suprafaţa epidermului.

Stratul generator este reprezentat de celule cubice cu numeroase mitoze. Deasupra lui se dispun, pe mai multe rânduri, celule poliedrice cu suprafaţa acoperită de *tonofibrile,* formând *stratul spinos (spino-celular)* (mucus-Malpighi). Celulele cu citoplasma clară şi nucleu veziculos sunt separate de spaţii largi prin care circulă plasmă interstiţială. Spre suprafaţa stratului spinos celulele se aplatizează, nucleii prezintă aspecte involutive, iar citoplasma se încarcă treptat cu granulaţii mari, bazofile, aspect ce marchează începutul keratinizării.

Stratul granular al lui Unna format din celule aplatizate conţin în citoplasmă *profilagrină* care în celulele mai superficiale ale acestui strat este transformată în *filagrină*.

Stratul lucidum (strălucitor) în care filagrina se complexează rapid cu *alfa-keratina,* explică trecerea bruscă de la bazofilia stratului granular la acidofilia acestui strat.

Populaţia principală a epidermului este constituită din *keratinocite*. Epiteliul stratificat de tip cornos (pavimentos) epidermic este un prototip de epiteliu *polarizat,* în care pierderile prin *descuamare* sunt localizate la suprafaţă, în timp ce procesele *proliferative* se desfăşoară exclusiv la nivelul stratului bazal. Între aceste două straturi, celulele nu se mai divid şi parcurg un proces de diferenţiere caracteristic. In consecinţă, *keratinocitele* sunt o populaţie de celule tranzitorii, al căror ciclu vital este limitat în timp, fiind supuse unui continuu proces de reînnoire. Timpul necesar keratinocitelor să parcurgă procesul de diferenţiere între stratul generator şi cel descuamant este de 2-4 săptămâni.

În stratul *bazal epidermic* se află aproximativ *15000 de celule pe fiecare* mm^2. O mică fracţiune din acestea *(circa 10%)* este reprezentată de celule speciale ca : *celulele pigmentare, celulele Langerhans* şi *celulele Merkel.* Majoritatea celulelor stratului generator este formată din keratinocite de formă uşor columnară, cu citoplasma bazofilă, care se află în diviziune celulară, fără alte caractere microscopice sau ultramicroscopice speciale. Cu toate acestea, din punct de vedere al însuşirilor biologice, keratinocitele stratului bazal nu sunt omogene. O mică parte dintre ele sunt *celule stem,* cu o mare capacitate de automenţinere prin diviziune, în cursul întregii vieţi a organismului, în ciuda pierderilor prin diferenţiere a unei părţi. *Celulele stem* epidermice reprezintă circa *0,60 %* din celulele stratului bazal. Cea mai mare parte din celulele stratului bazal sunt *celule proliferative* sau *precursoare,* care au căpătat capacitatea de a se diferenţia, adică de a evolua pe *linia keratinocitară.* Acestea provin din diviziunea celulelor stem. Una din celulele fiice rezultată din diviziunea celulei stem păstrează *caracterul matern* iar cea de a doua trece în *compartimentul proliferativ,* angajându-se în procesul de diferenţiere. Atâta timp cât rămân în stratul bazal, keratinocitele precursoare (angajate în diferenţierea keratinocitară) îşi păstrează şi capacitatea de înmulţire (de aceea sunt denumite proliferative) şi ele constituie principala sursă de înlocuire a keratinocitelor uzate (ciclul de diviziune al celulelor stem este mai lent). După câteva diviziuni în stratul bazal, celulele precursoare trec în compartimentul funcţional care începe cu stratul superior *(stratul spinos)* şi aceasta este marcată de achiziţionarea unor caractere specifice keratinocitelor. Trecerea celulelor precursoare din *stratul bazal* în *stratul spinos* este marcată de apariţia unei proteine citoplasmatice solubile denumită *involucrină* (lat. *involucrum* = înveliş) (fig. 1.7), precum şi de suprimarea capacităţii de diviziune.

Pe măsură ce straturile superficiale se desprind (se descuamează), stratul generator prin celulele precursoare (proliferative) dă naştere la noi celule care vor intra în circuitul keratinizării.

Keratinizarea constă în sinteza şi depozitarea intracelulară a *keratinei,* care se constituie pe măsură ce celulele se deplasează din stratul bazal spre stratul superficial, atingând forma sa completă în stratul cornos, unde umple celulele respective. Acest proces este însoţit de trei tipuri de modificări chimice care au drept consecinţă : a) transformarea matricei celulare în *keratină ;* b) densificarea membranei plasmatice şi c) impermeabilizarea matricei extracelulare.

Keratina este o proteină insolubilă, anionică, foarte rezistentă la digestia enzimatică, cu numeroase legături disulfidice. Keratina provine din transformările chimice treptate ale *citokeratinelor* (microfilamentele intermediare ale scheletului celulelor din straturile precedente) şi din *keratohialina stratului granular.* În cursul

Scanned with OKEN Scanner

diferenţierii lor, citokeratinele (sau *prokeratinele*) se acumulează treptat în citoplasmă, începând cu stratul imediat suprabazal, se grupează în fascicule la periferia celulei, pe măsură ce celulele trec în straturile superioare, se sulfatează, iar în stratul granular superficial se impregnează cu keratohialină. Aceasta începe să fie sintetizată de *ribozomii liberi* ai celulelor externe ale stratului spinos şi atinge dezvoltarea maximă *în stratul granular*. Constituirea *alfa-keratinei* (prin impregnarea fasciculelor de prekeratină cu keratohialină) se face brusc la trecerea din stratul granulos în cel *cornos*. Paralel cu constituirea alfa-keratinei în celulele stratului cornos, organitele celulare sunt digerate de enzimele lizozomale. Trecerea bruscă a alfa-keratinei din stratul granular în stratul cornos se datorează complexării ei cu o proteină bogată în histidină, denumită *filagrină*.

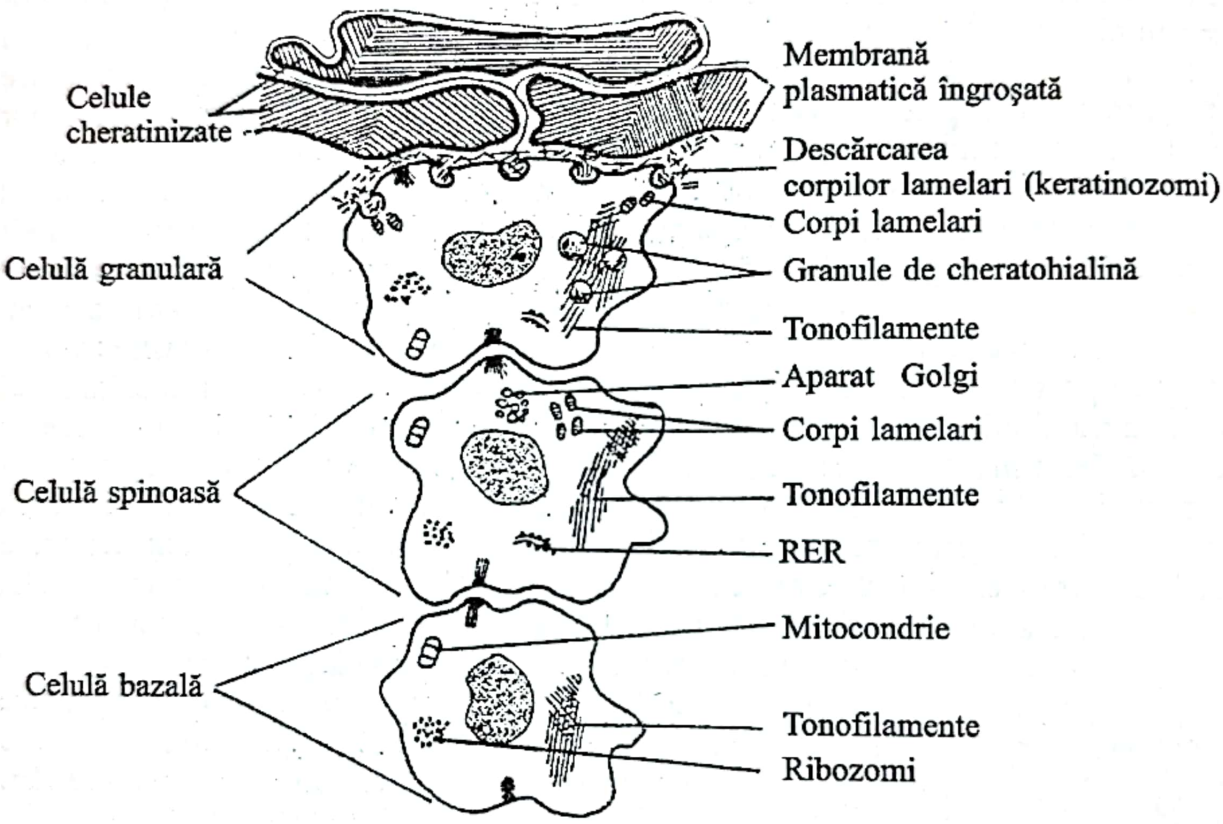


Fig. 1.7. ***Schema keratinocitelor epidermice***

Filagrina este o proteină cationică matriceală prezentă *numai* în celulele *stratului cornos*, funcţionând ca schelet pentru filamentele anionice de alfa-keratină ale celulelor complet diferenţiate din acest strat. Sinteza filagrinei începe în celulele profunde ale stratului granular sub forma unei proteine precursoare, cu greutate moleculară mare (mai mare de 350000), bogat fosforilată şi de natură anionică, denumită *profilagrină*. În celulele superficiale ale stratului granular, *profilagrina* este transformată de o protează din proteină anionică în proteină *cationică*, nefosforilată şi cu greutate moleculară mică, adică în *filagrină*. Transformarea profilagrinei în filagrină durează circa 6 ore. Profilagrina anionică din stratul granular nu se poate complexa cu alfa-keratina care este tot anionică. Filagrina, în schimb,

Scanned with OKEN Scanner

fiind cationică, se complexează rapid cu alfa-keratina şi aceasta explică trecerea bruscă de la *bazofilia stratului granular* la *acidofilia stratului cornos*. În stratul cornos, filagrina reprezintă scheletul pe care se sprijină alfa-keratina şi apoi este degradată treptat în circa 36 ore.

Membrana plasmatică a *corneocitelor* (keratinocite mature), în fazele terminale ale diferenţierii lor, ajunge la o grosime de circa 15 nm, ca urmare a formării unui *înveliş proteic subplasmalemal*. Acest înveliş constă din proteine care devin foarte greu solubile şi este vizibil la ME încă din stratul granular şi se desăvârşeşte în stratul cornos.

Aşa cum s-a menţionat, trecerea celulelor precursoare din stratul generator în stratul spinos este marcată de apariţia unei proteine citoplasmatice solubilă *(involucrina)*.

În stratul cornos, are loc transformarea involucrinei solubile în *involucrină insolubilă*.

Matricea extracelulară din stratul cornos este impermeabilă şi conferă o adezivitate mare corneocitelor. Keratinocitele sintetizează un material de natură glicolipidică, care se depozitează în citoplasmă sub formă de *corpi lamelari (keratinozomi)* cu dimensiunea de 2-3,5 nm. Conţinutul granulelor este eliminat şi depozitat în spaţiile extracelulare şi constituie o barieră primară pentru apă.

Epiteliul stratificat pavimentos nekeratinizat (de tip mucos sau epidermoid), permanent umectat de secreţiile mucoase sau seroase ale glandelor din lamina propria, este lipsit de stratul cornos. Acest tip de epiteliu este specific mucoasei bucale, esofagiene, vaginului, corneii etc. La nivelul orificiilor naturale, tranziţia de la epiteliul cutanat de tip cornos la epiteliul de tip mucos este gradată.

Structural, acest epiteliu prezintă trei straturi celulare : *bazal (generator), spinos* şi *superficial*. Celulele superficiale, aflate în diferite grade de involuţie, *se exfoliază* izolate sau în mici grupuri. La unele specii şi în anumite localizări (epiteliul bucal, esofagian, vaginal etc.) stratul superficial poate conţine celule keratinizate, fără a forma un strat cornos propriu-zis.

Epiteliul stratificat prismatic. Este întâlnit în conjunctiva palpebrală.

Epiteliul de tip urinar (stratificat polimorf ; *uroteliul*). Caracteristica morfologică a uroteliului este plasticitatea, evidentă în vezica urinară unde, în funcţie de variaţiile de volum, se modifică în mod evident atât grosimea epiteliului, cât şi forma celulelor. În mucoasa retractată epiteliul apare înalt, pluristratificat.

Stratul bazal, generator, este format dintr-un singur rând de celule cubice sau prismatice.

Stratul intermediar este alcătuit din mai multe rânduri de celule poliedrice ; caracteristic pentru acest strat sunt celulele în formă de *rachetă*. Acest strat este foarte gros la rumegătoare şi cabaline.

Stratul superficial este format din celule mari, unele *binucleate*, cu aspect de *umbrelă (umbeliforme)*. Celulele prezintă în citoplasma superficială o densificare sub formă de crustă – zonă histochimic bogată în fosfatază alcalină, glicogen şi glicoproteine, care împiedică resorbţia transepitelială a produşilor de excreţie. Celulele sunt solidarizate prin interdigitaţii, ceea ce permite deplasări ample. Atunci când căile urinare sunt sub tensiunea urinii acumulate, epiteliul se subţiază considerabil, deoarece prin deplasările celulare numărul de straturi se reduce uneori până la aspectul de epiteliu bistratificat, iar celulele epiteliale devin aplatizate (fig. 1.8).

Scanned with OKEN Scanner

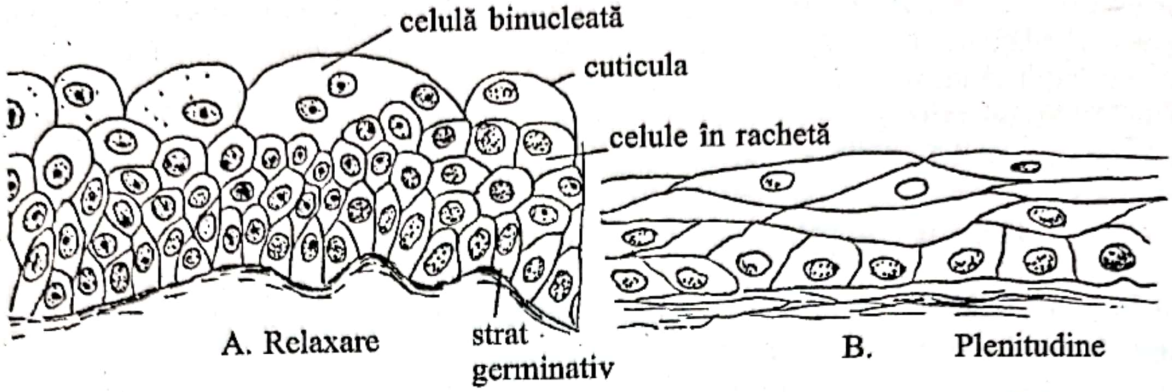


Fig. 1.8. ***Epiteliul pavimentos stratificat de tip urinar*** : A-în relaxare ; B-în extensie (plenitudine).

1.3. Epitelii glandulare

O anumită categorie de celule epiteliale – *celulele glandulare* – sunt diferenţiate pentru elaborarea unor produşi specifici, sub aspect chimic şi fiziologic. În elaborarea produşilor nu sunt implicate mecanisme diferite de cele ale metabolismului general ; procesul diferă doar sub aspectul cantitativ.

Procesul secretor constă în capacitatea celulei glandulare de a prelua din sânge sau mediul ambiant substanţe pe care le transformă din punct de vedere chimic, le separă de citoplasmă sub formă de granule sau vacuole, după care le elimină în mediul extern sau intern al organismului.

Celulele epiteliului glandular prezintă următoarele particularităţi morfostructurale : polaritate funcţională şi dezvoltarea deosebită a reticulului endoplasmic şi mitocondriilor situate în citoplasma subnucleară, a complexului Golgi şi vacuolelor de secreţie, situate supranuclear. Granulele şi vacuolele de secreţie, sub aspect biochimic şi fiziologic, nu conţin un produs identic cu cel eliberat extracelular. În majoritatea cazurilor celulele glandulare au o activitate ciclică, în care alternează perioade de secreţie cu perioade de repaus relativ.

1.3.1. Histogeneza glandelor

Glandele exocrine se constituie embrio-fetal şi postnatal, pe seama unor epitelii de acoperire. În zone circumscrise ale acestora apar *muguri celulari* ce se înfundă treptat în mezenchimul subiacent (fig. 1.9). Formaţiunile astfel constituite pot fi de la început cavitare sau se excavează ulterior, lumenul lor comunicând totdeauna cu suprafaţa epiteliului de origine. În numeroase cazuri aceste invaginări epiteliale persistă ca formaţiuni glandulare simple, alteori formează muguri colaterali şi astfel se vor constitui glande cu o structură complexă. Cât priveşte originea embriologică, glandele exocrine derivă din foiţa embrionară care a dat naştere epiteliului la suprafaţa căruia îşi drenează secreţia.

Scanned with OKEN Scanner

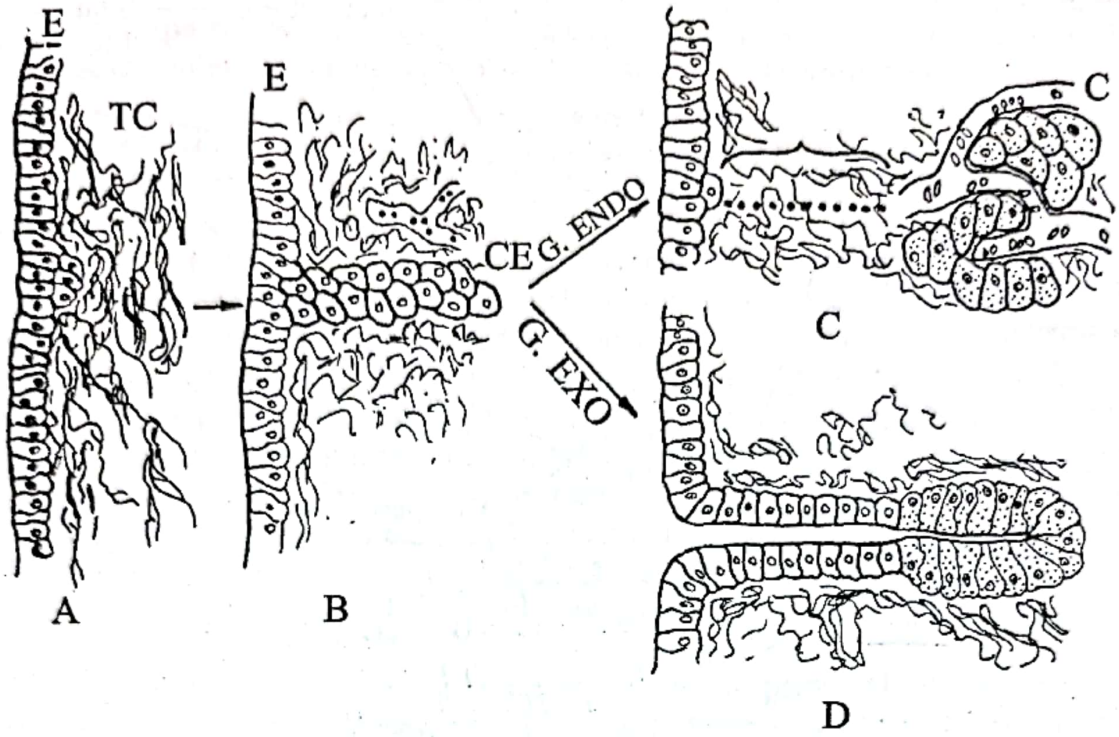


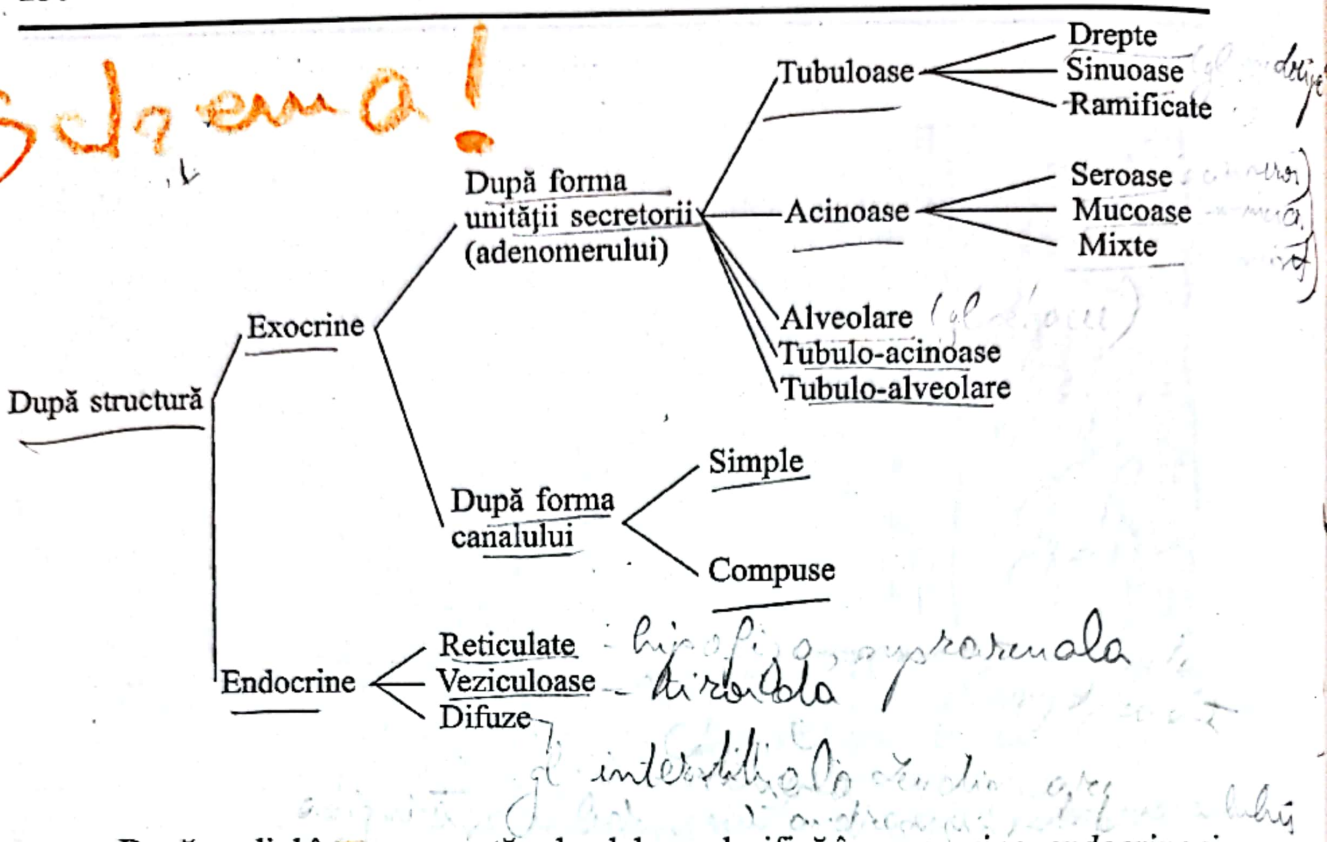
Fig. 1.9. ***Histogeneza glandelor exocrine şi endocrine*** : A. Formarea unui mugure epitelial (E-epiteliul ; TC-ţesut conjunctiv) ; B. Formarea cordonului epitelial (CE) ; C. Formarea glandelor endocrine ; D. Formarea glandelor exocrine.

Glandele endocrine se dezvoltă printr-un mecanism identic, cu deosebirea că, după un anumit timp, legătura cu epiteliul superficial de origine *se resoarbe* şi prin aceasta, formarea unui canal excretor este *exclusă*. Masa de celule astfel izolată stabileşte raporturi strânse cu vasele sanguine. Există şi glande endocrine a căror origine nu este iniţiată de un epiteliu ca, de exemplu, glandele suprarenale, glanda interstiţială a testiculului etc.

1.3.2. Clasificarea glandelor

După mediul în care secretă
- Exocrine
- Endocrine
- Amficrine (mixte)

După mecanismul de secreţie
- Merocrine
- Apocrine
- Holocrine



După mediul în care secretă, glandele se clasifică în : *exocrine, endocrine* şi *amficrine*.

Glandele exocrine sau glandele cu secreţie externă elimină produsul de secreţie prin canalele excretoare, fie în afara organismului, fie într-o cavitate a unui organ, care comunică cu exteriorul. Aceste glande păstrează legătura cu suprafaţa epiteliului, printr-un canal de excreţie, prin intermediul căruia este eliminat produsul de secreţie. Exemple : glandele tubului digestiv, ale pielii, ale căilor genitale, ale căilor respiratorii.

Glandele endocrine sunt glande cu secreţie internă, care, se caracterizează prin eliminarea produsului de secreţie în mediul intern al organismului, în sânge *(hemocrinie)*, limfă *(limfocrinie)*, lichidul cefalorahidian *(hidrencefalocrinie)*, sau pe calea filetelor nervoase *(neurocrinie)*. Aceste glande sunt lipsite de canale excretoare, produsul de secreţie este antrenat direct în sânge sau limfă şi dispun de o reţea vasculară foarte dezvoltată. Exemple: hipofiza, epifiza, timusul, tiroida, suprarenala, paratiroida.

Glandele amficrine sunt formate din celule care manifestă ambele moduri de secreţie *exo-* şi *endocrină*. Aceste glande se pot prezenta sub două aspecte :

a) aceeaşi celulă manifestă ambele moduri de secreţie exo- şi endocrină, de ex. ficatul. Celula hepatică are o dublă polaritate funcţională, ea prezentând un pol biliar exocrin în legătură cu canaliculul biliar şi un pol sanguin endocrin în contact intim cu capilarul sinusoidal al circulaţiei porte sanguine ;
b) glanda prezintă atât *teritorii exocrine* cât şi *teritorii endocrine*, cu structură şi funcţie separată, exemplu : pancreasul (componenta glandulară *exocrină* este reprezentată de *acinii seroşi* pancreatici, iar componenta glandulară *endocrină* este constituită din *insulele Langerhans)* ; ovarul şi testicului.

Scanned with OKEN Scanner

În clasificarea morfologică se are în vedere absenţa sau prezenţa canalului excretor, aspectul acestuia (simplu sau compus), precum şi forma segmentelor secretoare : tubuloase, acinoase, alveolare, simple sau ramificate.

1.3.2.1. Glandele exocrine

Glandele exocrine fără canal. Cuprind glande uni- sau pluricelulare, localizate strict în grosimea unui epiteliu de acoperire :

Glandele unicelulare sunt considerate *celulele mucoase caliciforme* întâlnite intraepitelial şi intercalate printre celulele de acoperire ale epiteliilor prismatice ca, de exemplu, epiteliul intestinal, traheo-bronşic, al căilor genitale etc.

Glandele intraepiteliale sunt constituite din mici grupări compacte de celule, localizate strict în grosimea unor epitelii. Astfel de glande se află în epiteliul nazal, al vălului palatin, al epiglotei, traheii, uretrei masculine.

Glandele exocrine cu canal excretor. Sunt constituite din simple invaginaţii ale unui epiteliu de acoperire, care pătrund mai mult sau mai puţin adânc în corionul subiacent, sau pot fi organe cu o arhitectură complexă (*stromă* şi *parenchim*), situate la distanţă de epiteliul de origine. Structural, aceste glande sunt constituite din două segmente :

Segmentul distal (sau *adenomerul* – segment principal faţă de epiteliul de origine) cu funcţie exclusiv secretorie. Există adenomere tubulare, acinoase, alveolare, simple sau ramificate.

Segmentul proximal sau excretor este format din unul sau mai multe canale simple sau ramificate, a căror funcţie predominantă este să conducă la suprafaţa unui epiteliu secreţia elaborată de către adenomer.

Aceste glande păstrează legătura cu suprafaţa epiteliului printr-un canal de excreţie, prin intermediul căruia este eliminat produsul de secreţie. Exemple : glandele anexe ale tubului digestiv (glandele salivare mari, glandele intrinseci din grosimea pereţilor stomacului, duodenului, jejunului), ale pielii (glanda sebacee şi sudoripară), ale căilor respiratorii. Caracteristica esenţială a celulelor epiteliale exocrine este *dubla lor polaritate,* morfofuncţională. În regiunea bazală se găseşte ergastoplasma şi mitocondriile, iar în porţiunea supranucleară (apicală), aparatul Golgi şi produşi de secreţie care se maturează în acest organit. Acestei polarităţi morfologice îi corespunde una funcţională, reprezentată prin *permeabilitatea polului bazal* al celulei pentru apă şi substanţe nutritive (preluate din sânge) şi cea a *polului apical* pentru produşii secretaţi. Toate glandele exocrine compuse au un plan comun de organizare morfologică. Sunt delimitate la exterior de o *capsulă*, iar la interior sunt formate din *parenchim* şi *stromă*. Capsula este formată dintr-un ţesut conjunctiv semiorientat, ce protejează glanda. De la nivelul ei se desprind o serie de structuri *(travee sau septe)* care separă glanda în *lobi* şi *lobuli*. Aceste travee constituie *stroma glandulară* şi reprezintă scheletul sau suportul elementelor secretorii. În interiorul lobulilor se evidenţiază celulele secretoare *(parenchimul glandular)*. Aceste celule se grupează în unităţi morfofuncţionale numite *acini (seroşi, mucoşi* şi *micşti)*. Celulele unităţilor morfofuncţionale ale parenchimului sunt separate de elementele stromale prin *lamina bazală*. Canalele glandelor exocrine sunt sistematizate în *canale intralobulare* (*Boll* şi *Pflüger*), *interlobulare* (dintre lobuli), *interlobare* (dintre lobi) şi *canalul colector.*

Scanned with OKEN Scanner

După mecanismul de secreţie, glandele se clasifică în trei grupe : *merocrine, apocrine* şi *holocrine*.

Glandele merocrine sunt alcătuite din celule care secretă prin polul lor apical, la care membrana devine semipermeabilă pentru produşii secretaţi. Celulele elimină secreţia prin *exocitoză*, ele păstrându-şi astfel integritatea morfologică. Celulele secretoare trec prin diferite faze de activitate, parcurgând un ciclu secretor. În această categorie intră majoritatea glandelor din organismul animal : glandele salivare, glandele din peretele tubului digestiv, glandele căilor respiratorii.

Glandele apocrine (holomerocrine) sunt reprezentate de celulele care la fiecare ciclu secretor, partea apicală a celulei ce conţine produşii de secreţie se decapitează şi cade în lumenul glandei. Polul bazal şi nucleul rămân intacte pentru a reface celula în vederea integrării într-un proces nou secretor. Astfel se întâmplă în celulele epiteliale ale alveolelor glandei mamare (fig. 1.10). Microscopia electronică a arătat că substanţele proteice *(cazeina)*, glucidice *(lactoza)* şi lipidice ale produsului de secreţie (laptele) se elimină diferit ; primele două printr-un mecanism de exocitoză caracteristic, în timp ce componenta lipidică se elimină în întregime sub forma unor vezicule cu endomembrane de înveliş.

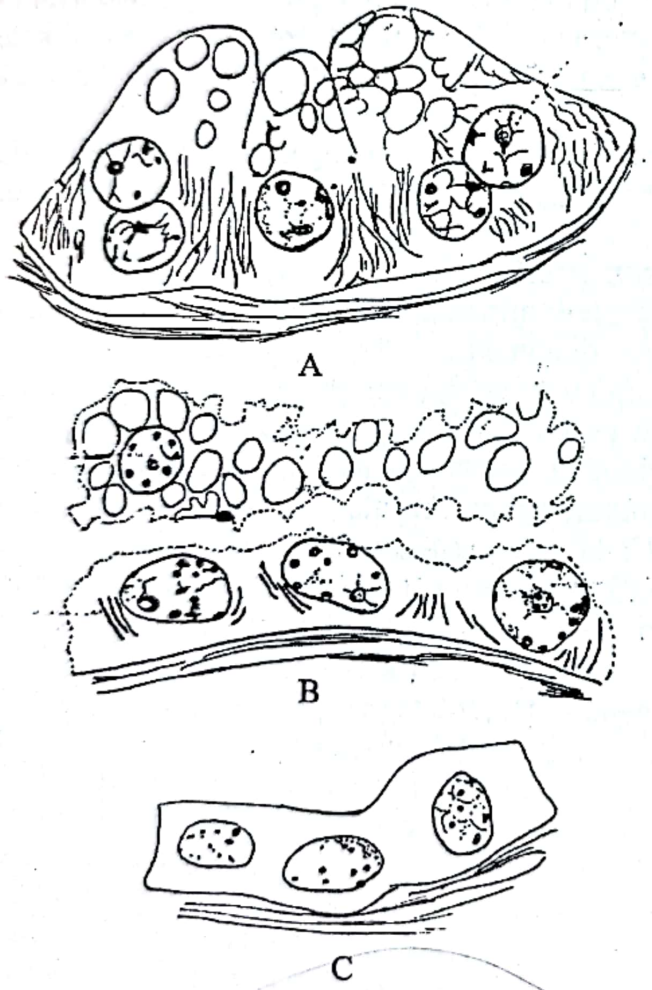


Fig. 1.10. ***Ciclul secretor al epiteliului alveolei glandulare mamare*** : A-stadiul de acumulare ; B-stadiul de elaborare ; C-stadiul postsecretor

Glandele holocrine. În secreţia de tip holocrin, celulele efectuează un singur ciclu secretor, eliberarea produsului de secreţie fiind concomitentă cu moartea şi dezintegrarea celulară. Aceasta înseamnă că la produsul de secreţie se adaugă şi detritusurile citoplasmatice şi nucleare. Astfel de mecanisme de excreţie prezintă glandele sebacee (fig. 1.11), glanda uropigee la păsări şi glanda subanală la nutrie.

Glanda sebacee este formată dintr-o *porţiune glandulară (adenomer)* şi dintr-un *canal scurt* care se deschide la baza firului de păr. Adenomerul în secţiune are aspect de sac format din *lamina bazală* pe care se sprijină un *strat germinativ*, format din celule aplatizate cu nuclei hipercromatici. După acest strat, urmează *celule ovalare* sau *poligonale*, cu citoplasma

Scanned with OKEN Scanner

intens vacuolară, dată de prezenţa în citoplasma lor a picăturilor de lipide care au fost dizolvate în solvenţii organici. Celulele care se află spre centrul glandei îşi pierd colorabilitatea, de cele mai multe ori prezentând nucleul picnotic şi citoplasma intens vacuolară şi de aspect granular, constituind secreţia de tip holocrin, *sebum*.

Un tip particular de holocrinie se întâlneşte la gonade, partea exocrină fiind reprezentată la *testicul* de *tubii seminiferi* şi la *ovar* de *foliculii ovarieni*. In tubii seminiferi se formează spermatozoizii care se elimină în totalitate, iar în foliculii ovarieni dehiscenţi se eliberează ovocitul II, care devine ovul în treimea superioară a oviductului. În asemenea situaţii se elimină celule vii.

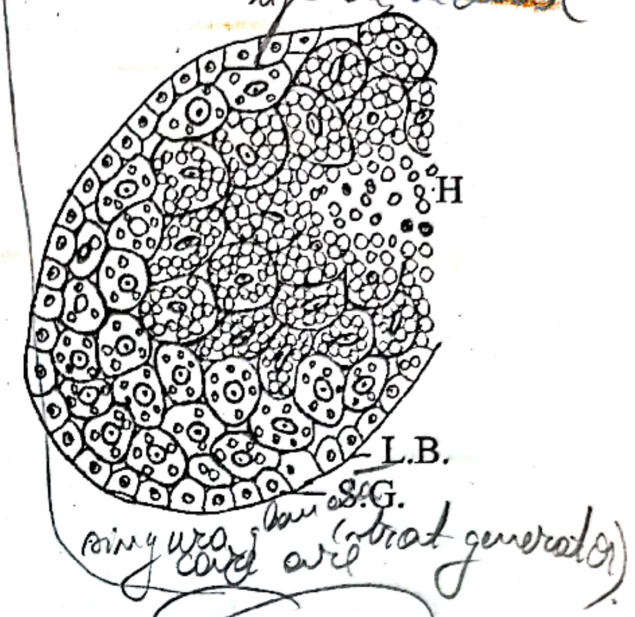


Fig. 1.11. ***Glanda sebacee din pielea de oaie***: LB-lamina bazală ; SG-strat generator ; H-aspectul holocrin al secreţiei

După forma adenomerului, glandele exocrine pot fi : *tubuloase, acinoase, alveolare, tubulo-acinoase* şi *tubulo-alveolare* (fig. 1.12).

Glandele tubuloase au adenomerul în formă de tub, care poate fi *rectiliniu* (glandă tubuloasă dreaptă – glandele Lieberkühn) (fig. 1.13), *sinuos* (glandă tubuloasă sinuoasă- glanda sudoripară), *ramificat* la extremitatea lui liberă – glandele regiunii fundice a stomacului.

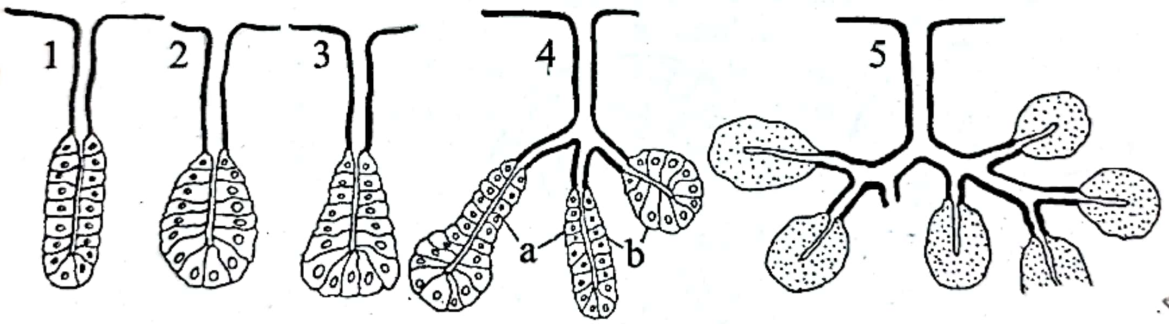


Fig. 1.12. ***Tipuri de glande***: 1-tubulară, 2-acinoasă ; 3-alveolară, 4a-tubulo-acinoasă ; 4b-tubulo-alveolară ; 5-glandă compusă.

Glanda Lieberkühn are aspect de tub şi este formată dintr-un epiteliu prismatic simplu (*celule cu platou striat, celule caliciforme, argentafine* şi *celule Paneth*), ce se sprijină pe o lamină bazală. Lumenul glandei este strâmt.

Glandele acinoase au adenomerul de formă sferică sau ovalară. După structura lor, dar mai ales după compoziţia chimică a secreţiei, distingem trei tipuri de acini glandulari : *acinul seros, acinul mucos* şi *acinul mixt* (fig. 1.14).

Acinul seros este unitatea morfofuncţională a glandei parotide şi pancreasului exocrin. Acinul seros este format din celule prismatice înalte, inserate pe lamina bazală. Prin polul lor apical aceste celule circumscriu un *lumen strâmt*, abia vizibil.

Scanned with OKEN Scanner

Fiecare celulă are o bază largă şi un pol apical efilat. Nucleii sunt veziculoşi, situaţi la limita dintre treimea mijlocie şi cea bazală a celulei.

Citoplasma regiunii bazale este intens bazofilă (*ergastoplasma*) (*ergasteyl* = a elabora), iar la polul apical se remarcă *granule de zimogen* (*zim* = enzimă ; *genao* = a produce). Secreţia este fluidă şi este antrenată în lumenul strâmt al acinului. Pentru ultrastructura celulei seroase, vezi ergastoplasma, vezi elaborarea proteinelor în celulă.

Acinul mucos este unitatea morfofuncţională a glandei mucoase (glanda Brünner din submucoasa duodenului) (fig. 1.15). Este format din numeroase celule prismatice joase, a căror pol apical delimitează un *lumen larg*. Nucleii sunt aplatizaţi, deformaţi şi discoidali, situaţi la baza celulei. Prin baza lor, celulele se sprijină pe o *lamină bazală*. În citoplasma polului apical se remarcă numeroase granule de mucigen care, prin exocitoză, furnizează *mucusul*. Acesta este vâscos, filant şi bogat în glicoproteine acide şi neutre, evidenţiabile prin metoda PAS-albastru Alcian. Organitele care participă la elaborarea mucusului (glicoproteine acide şi neutre) sunt : reticulul endoplasmic granular, aparatul Golgi şi mitocondriile.

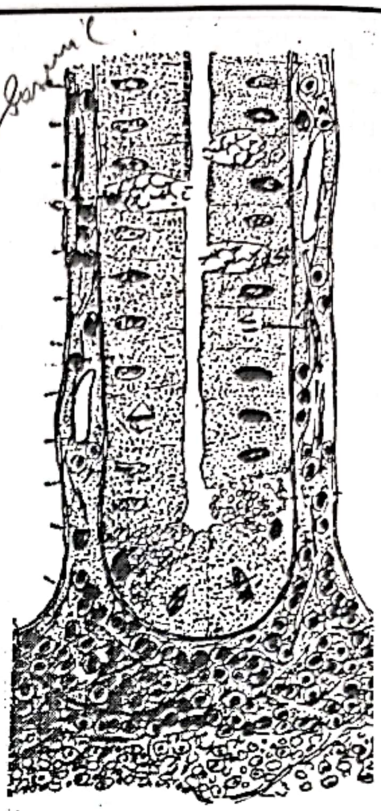
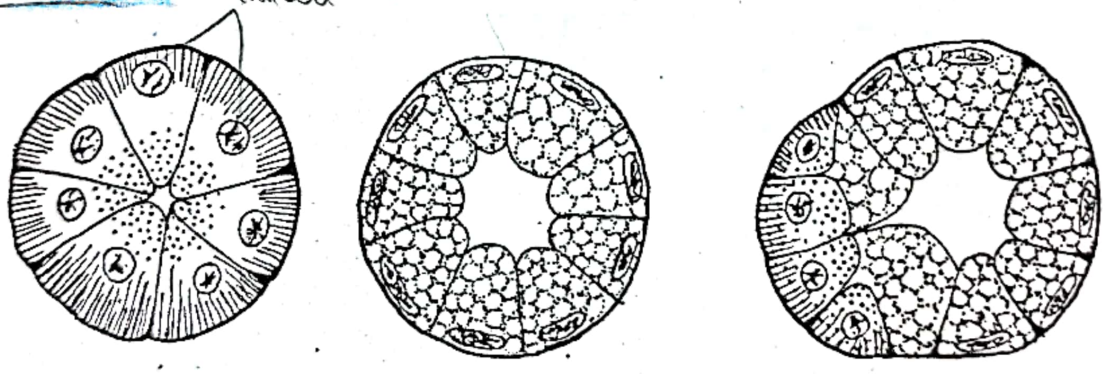


Fig. 1.13. ***Glandă tubuloasă dreaptă Lieberkühn din intestinul subţire***



A B C

Fig. 1.14. ***Tipuri de acini*** : A-seros ; B-mucos ; C-mixt

Acinul mixt este unitatea morfofuncţională a glandelor mixte (mandibulară şi sublinguală), care secretă un amestec de cele două tipuri de secreţie (*seroasă* şi *mucoasă*). Acinul mixt este format din celule mucoase, care sunt mai numeroase reprezentând 4/5 din volumul acinului, localizate spre interior şi celule seroase în număr redus (două, trei sau patru) situate la periferie, luând aspectul de cornuleţ sau *semilună (semiluna Gianuzzi)*. Aceasta apare mai închisă la culoare datorită prezenţei ergastoplasmei în celulele ce o compun. Secreţia lor seroasă este antrenată

prin spaţiile dintre celulele mucoase în lumenul acinului, unde se amestecă cu secreţia mucoasă. Întreaga formaţiune este înconjurată de *lamina bazală*, care serveşte ca suport atât pentru celulele mucoase, cât şi pentru cele seroase.

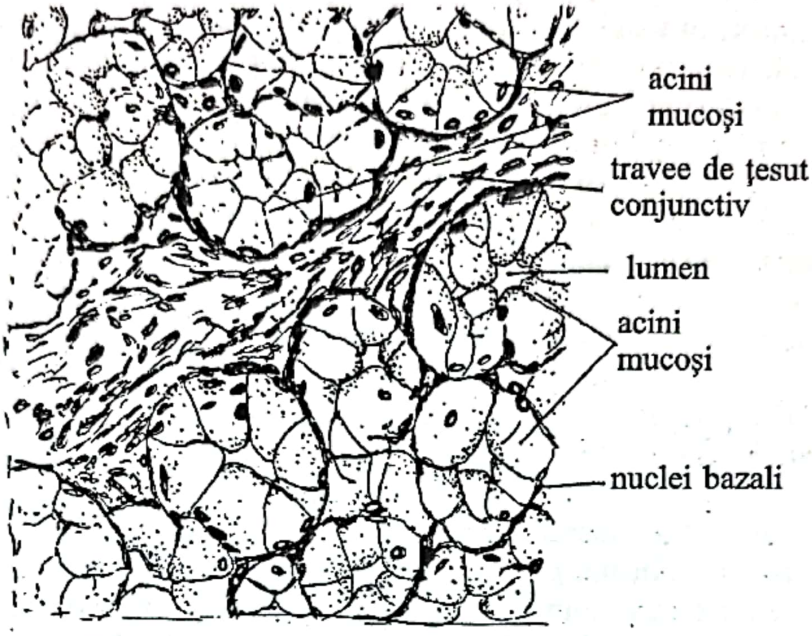


Fig. 1.15. ***Acinii mucoşi ai glandei Brünner din duoden***

1.3.2.2. Glandele endocrine

După modul cum se organizează celulele secretoare, glandele endocrine pot fi : *reticulate,* celulele fiind organizate în cordoane (hipofiza, suprarenala) ; *veziculoase* (fig. 1.16), celulele formează vezicule (tiroida) şi *dispersate* (difuze, interstiţiale) unde celulele sunt răspândite neuniform (glanda interstiţială a testiculului şi a ovarului).

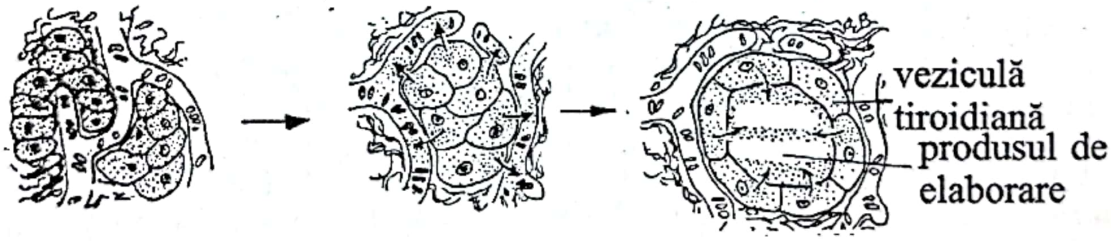


Fig. 1.16. ***Modalitatea formării veziculelor tiroidiene***

Glandele endocrine prezintă o structură morfologică mai simplă, fiind lipsite de canale excretorii şi având strânse relaţii cu vasele sanguine ; acestea reprezintă atât calea de aport a substanţelor necesare sintezei, cât şi calea de eliminare a produşilor formaţi. Substanţele elaborate sunt fie de natură *proteică* sau *glicoproteică,* fie de natură *lipidică* şi se numesc *hormoni* (gr. *hormao* = a declanşa o activitate). Hormonii sunt vehiculaţi la distanţă de glanda unde sunt produşi şi acţionează asupra anumitor organe – *organe ţintă.* După timpul de acţiune, ei pot avea o perioadă de latenţă mai lungă, atunci când sunt distribuiţi pe cale

Scanned with OKEN Scanner

sanguină, sau mai scurtă, atunci când circulă pe cale nervoasă. Hormonii stimulează sau inhibă anumite procese din organele respective.

Celulele glandelor endocrine *nu prezintă o dublă polaritate* (pol bazal şi apical) ca în glandele exocrine ; atât organitele cât şi granulele de secreţie sunt răspândite uniform în toată celula, fără a exista un pol secretor bine definit. *Face excepţie tiroida, care prezintă o dublă polaritate,* produsul de secreţie fiind stocat extracelular în interiorul *veziculei tiroidiene* (prin polul apical) sub formă de coloid. Înainte de a fi eliberat în circulaţie, coloidul este pinocitat de celulă prin polul apical, fuzionează cu lizozomii, iar *tireoglobulina* este degradată prin enzimele hidrolitice, rezultând *tiroxina,* care pătrunde prin polul bazal în capilarele sanguine.

În funcţie de natura chimică a hormonului sintetizat se deosebesc trei tipuri de celule endocrine : *celule care sintetizează polipeptide mari ; celule care elaborează steroizi* şi *celule sintetizante de polipeptide mici*.

- *Celule care sintetizează polipeptide mari ;* sunt celule cu citoplasma moderat bazofilă, datorită *reticulului endoplasmic rugos dezvoltat,* cu granule de secreţie uniform răspândite. Produsul secretat fiind în cantitate mai mică, bazofilia reticulului endoplasmic rugos şi a granulelor de secreţie va fi mai redusă, comparativ cu bazofilia celulelor exocrine, bogat secretante de proteine.

Dimensiunea, forma, colorabilitatea histochimică a granulelor de secreţie, cât şi densitatea lor electronomicroscopică, sunt specifice pentru fiecare hormon în parte. Celule sintetizante de polipeptide mari sunt cele din: hipofiză, tiroidă, paratiroidă, celulele alfa din insulele Langerhans.

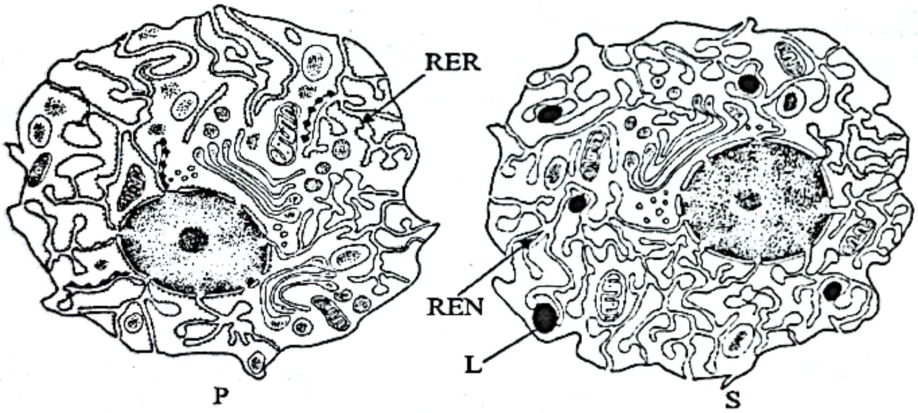


Fig. 1.17. ***Celula elaboratoare de hormoni polipeptidici (P) şi celula elaboratoare de hormoni steroizi (S) la ME*** : RER – reticul endoplasmic rugos ; REN – reticul endoplasmic neted ; L – picături de lipide

Aceste celule sintetizează şi o proteină de asociere *» un cărăuş specific hormonului»* unite printr-o legătură labilă, care împiedică difuzarea produsului de secreţie polipeptidic prin veziculele golgiene şi care, în momentul exocitozei sau ulterior, se desface de hormon. În timp ce prezenţa granulelor de sinteză poate ilustra o activitate normală a acestor tipuri de celule, absenţa lor nu indică stadiul funcţional al glandei, reprezintă fie un aspect de hipofuncţie, fie rezultatul unei eliberări recente în sânge a hormonului, în urma unei solicitări prelungite a organismului.

Scanned with OKEN Scanner

- *Celulele care elaborează steroizi.* Exemple : celulele interstiţiale ale testiculului, ovarului, suprarenalei. Sunt celule palid acidofile, poliedrice sau sferice, cu nucleul central şi citoplasma spumoasă, bogată în picături lipidice (fig. 1.17). Aceste celule nu au capacitatea de a stoca produsul de sinteză, ci acesta este eliminat, în funcţie de cerinţele organismului, imediat ce este sintetizat. De aceea, celula stochează doar precursorii steroizilor.

Ultrastructural, se evidenţiază un *reticul endoplasmatic neted,* foarte dezvoltat, necesar pentru sinteza colesterolului din acetat şi apoi formarea pregnenolonului, ca în final să rezulte hormoni androgeni, estrogeni şi progesteron.

- *Celulele sintetizante de polipeptide mici.* Sunt celule care concentrează în citoplasma lor, *amine biogene* ca : *adrenalina, noradrenalina, serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT),* sau aminoacizi precursori ai acestora, din care sintetizează aminele corespondente. Pentru aceasta celulele prezintă o intensă activitate a aminoacid decarboxilazei. Datorită caracteristicii menţionate, celulele sunt denumite ca aparţinând sistemului APUD (tabelul 1.2) *(Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) (sistemul de prelucrare şi de decarboxilare a precursorilor aminici).* O parte din celulele APUD au origine embrionară comună în *crestele neurale,* ele având funcţii de sinteză, stocare şi eliminare a aminelor biogene, ulterior câştigând proprietatea de a sintetiza şi secreta în paralel şi polipeptide. Astfel, celulele mai sunt cunoscute şi sub denumirea de celule secretoare de polipeptide şi amine biogene. Granulele secretorii conţin aceste substanţe şi astfel la mamifere, sunt descrise aproximativ 30 de tipuri celulare care aparţin acestui grup.

După afinităţile lor tinctoriale, putem distinge din întreaga heterogenitate de astfel de celule endocrine, două mari grupe : unele *argentafine* şi altele, *argirofile.*

Celulele argentafine prezintă granulaţii ce reduc fără vreun tratament adiţional argintul amoniacal, colorându-se în negru. Deoarece în unele celule, granulaţiile au şi afinitate pentru săruruile de crom (bicromat), apărând brune, celulele au fost numite şi *cromafine (enterocromafine* – EC). Ele elaborează *serotonina (5-hidroxitriptamina 5-HT).* Sunt prezente în mucoasa gastrică şi cea intestinală, printre celulele epiteliului de suprafaţă, dar mai ales în cel granular. Ultrastructural, aceste celule sunt de formă piramidală, cu un complex Golgi supranuclear dezvoltat. Granulele electronodense sunt numeroase, cu diametrul de 200 nm şi conţin produsul de secreţie, *serotonina.* Această substanţă biologic activă apare şi în alte organe, dar se pare că 2/3 din întreaga cantitate este furnizată de celulele endocrine din mucoasa gastro-intestinală. Serotonina joacă un rol important în motilitatea tubului digestiv. Celulele argentafine secretă şi *substanţa P (motilina).*

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.2 ***Cele mai cunoscute celule APUD prezente în organism***

Denumirea celulei	Localizarea	Polipeptidul produs	Amina biogenă
A	Stomac	Glucagon	-
G	Stomac	Gastrină	-
EG	Intestin	Glucagon	-
S		Secretină	-
D		Somatostatină	Serotonină (5-HT)[x)]
C	Adenohipofiză	ACTH	Triptamină
M		MSH	Triptamină
C (parafoliculare)	Tiroidă	Calcitonină	Serotonină (5-HT)
A	Ins. Langerhans	Glucagon	Dopamină
B		Insulina	Dopamină
D		Somatostatina	Serotonină (5-HT)
A	Medulosuprarenală	Cromogranină	Adrenalină
NA			Noradrenalină

5-HT [x)] – 5-hidroxitriptamina

Celulele argirofile sunt mai mici ca precedentele şi nu ajung cu polul apical la suprafaţa epiteliului. Granulaţiile din citoplasmă sunt inegale şi au proprietatea de a reduce azotatul de argint amoniacal, numai după tratarea prealabilă cu reactivi reducători. În cadrul acestor celule, în funcţie de structura organitelor şi conţinutul granulelor secretorii, au fost descrise următoarele tipuri celulare: A, G, EG, S, D, I, K, N.

Celulele A, ultrastructural, sunt asemănătoare celulelor A (alfa) din insulele Langerhans ale pancreasului. Granulele intracitoplasmatice conţin *hormonul glucagon* cu un rol hiperglicemiant prin acţiune glicogenolitică hepatică. Aceste celule aparţin sistemului APUD.

Celulele G sunt mai înalte, ajung până la lumen şi au granulele sferice, cu diverse densităţi ultramicroscopice. Se găsesc predominant în regiunea pilorică a stomacului, dar şi în duoden. Ele secretă *gastrina,* cu rol în stimularea formării HCl. Aceste celule fac parte şi ele din sistemul APUD.

Celulele EG sunt răspândite în special la nivelul ileonului şi colonului şi secretă *enteroglucagon* (EG).

Celulele S elaborează *secretina* cu rol în eliminarea ionică şi a apei în ficat şi pancreas. Ele aparţin sistemului APUD.

Celulele D sunt similare cu cele de tip D din insulele Langerhans din pancreas. Ele sunt localizate în stomac şu duoden şi sunt implicate în sinteza *somatostatinei.*

Celulele I secretă *colecistokinina,* hormon cu rol în contracţia veziculei biliare şi în elaborarea enzimelor pancreatice.

Celulele K se găsesc în intestinul subţire şi elaborează peptide inhibitorii ale secreţiei gastrice (GIP – gastric inhibitory peptide).

Scanned with OKEN Scanner

Celulele N elaborează *neurotensina* care inhibă secreţia gastrică, creşte glicemia şi intervine în motilitatea gastro-intestinală.

Unii produşi ai celulelor endocrine gastro-intestinale acţionează ca şi adevăraţi hormoni peptidici (ex. *gastrina, secretina şi colecistokinina),* care sunt antrenaţi în circulaţia sanguină de unde ajung la organele ţintă (stomac, pancreas şi vezicula biliară). Alte peptide *(enteroglucagon, motilina, VIP – vasoactive intestinal peptide -)* sunt considerate a fi »candidaţi hormonali», a căror acţiune farmacologică, deşi cunoscută, nu a fost încă explicată în procesele fiziologice. Unele peptide *(somatostatina)* pot fi eliberate în ţesutul conjunctiv înconjurător, unde influenţează celulele din imediata vecinătate (activitate *paracrină*).

1.4. Epitelii senzoriale

Sub aspectul originii, epiteliile senzoriale provin din *ectoderm,* la fel ca şi sistemul nervos. Marea majoritate îşi dobândesc particularităţile morfologice şi fiziologice abia după ce stabilesc raporturi de contiguitate (*sinapse*) cu dendritele unor neuroni senzitivi. Celulele sunt diferenţiate morfologic şi senzorial, în sensul că devin capabile să recepţioneze excitanţi specifici din mediul exterior (optici, acustici, chimici, mecanici etc.). Astfel de celule se găsesc în epiteliile organelor de simţ : celulele *fonoreceptoare* din organul Corti, *statoreceptoare* ale crestelor şi maculelor acustice din formaţiunile vestibulare ale urechii interne, celulele *fotoreceptoare* (cu *conuri* şi *bastonaşe*) din retina vizuală, celulele *chemoreceptoare* din mugurii gustativi, celulele din zona olfactivă a mucoasei nazale, precum şi unele celule din epidermă.

1.5. Mioepitelii

Unitatea morfofuncţională a ţesutului mioepitelial o constituie *celula mioepitelială,* fusiformă sau ramificată. Este o celulă epitelială modificată, cu citoplasma bogată în *miofibrile*, îndeplinind funcţii similare celulelor musculare. Asemenea celule se întâlnesc în peretele glandelor exocrine, mai ales în alveolele glandulare şi în canalele glandei mamare.

Scanned with OKEN Scanner

2. ŢESUTUL CONJUNCTIV

Ţesuturile conjunctive (latin. *conjugo* = a lega, a uni) constituie un grup heterogen din punct de vedere morfofiziologic, larg răspândite în organism, dar cu origine şi numeroase însuşiri comune. Ţesuturile conjunctive sunt formate din celule, substanţă fundamentală şi fibre, în proporţii diferite. Ele sunt situate intern, nu vin în contact direct cu suprafeţele, de care sunt separate prin epitelii suprapuse. Ţesuturile conjunctive sunt bogat vascularizate şi inervate, interrelaţia conjunctivo-vasculară fiind deosebit de importantă, prin schimburile active între plasma capilară şi mediul tisular.

2.1. Histogeneza

Componentele ţesuturilor conjunctive sunt de origine *mezoblastică*. Din mezoblastul primitiv, în structura *sclerotomului* iau naştere *celule mezenchimale* (fig. 2.1) caracterizate printr-o mare putere de proliferare, migrare activă şi diferenţiere care, în ansamblu, împreună cu substanţa intercelulară, constituie *ţesutul mezenchimal*. Sub influenţa factorilor histogenetici, generali şi locali, din ţesutul conjunctiv tânăr (mezenchimal) iau naştere ţesuturile conjunctive, musculare, vasele, ţesuturile şi organele hematoformatoare.

Ontogeneza componentelor conjunctive se desfăşoară în următoarea succesiune : primele apar celulele, care elaborează glicoproteinele (substanţa fundamentală) şi apoi precursorii fibrelor. În stadiul postfetal (posteclozional la păsări) raporturile dintre cele trei componente se modifică ; la tineret predomină substanţa fundamentală, iar la organismele îmbătrânite structurile fibrilare devin dominante.

Ţesuturile conjunctive posedă o mare capacitate regenerativă şi plastică, ce se menţine pe întreaga perioadă de viaţă a individului. Între ţesutul conjunctiv şi ţesuturile epiteliale se stabilesc relaţii de condiţionare reciprocă încă din perioada embrio-fetală. Ţesuturile conjunctive îndeplinesc multiple roluri : mecanic, trofic, de apărare, metaplazic, de sinteză. Datorită heterogenităţii morfofiziologice, clasificarea ţesuturilor conjunctive este dificilă, bazată atât pe caracterele generale, comune, cât şi pe cele strict specifice. Sistematica clasifică ţesuturile conjunctive în două mari grupe : *ţesuturi conjunctive embrionare* (de tranziţie) şi ţesuturi conjunctive *adulte (propriu-zise, semidure* şi *dure)*.

Scanned with OKEN Scanner

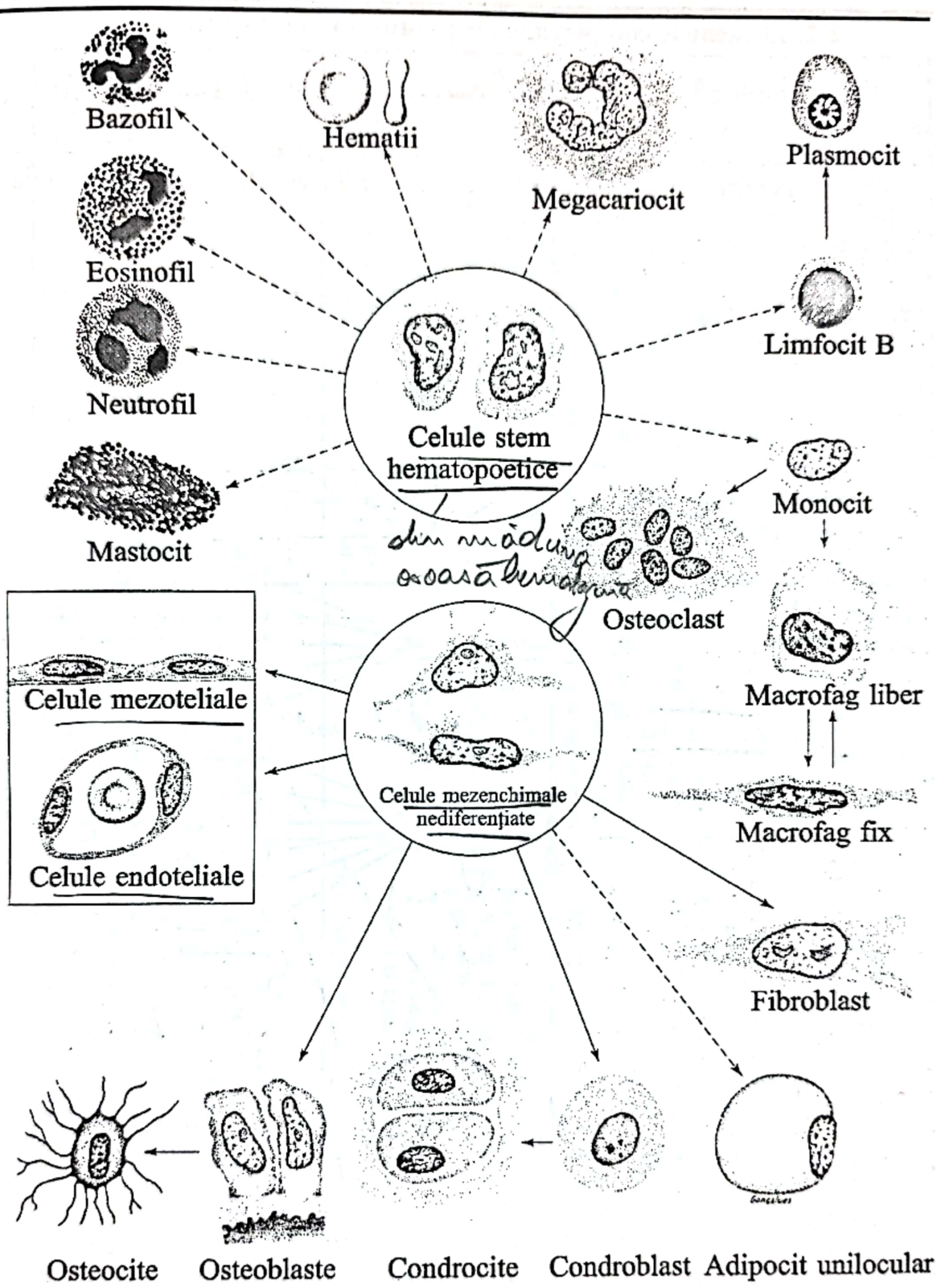


Fig. 2.1 ***Liniile celulare ce rezultă din celula mezenchimală multipotentă.*** În chenar două celule epiteliale *(celula mezotelială* şi cea *endotelială),* ce rezultă din celula mezenchimală *(Junqueira şi colab., 1998).*

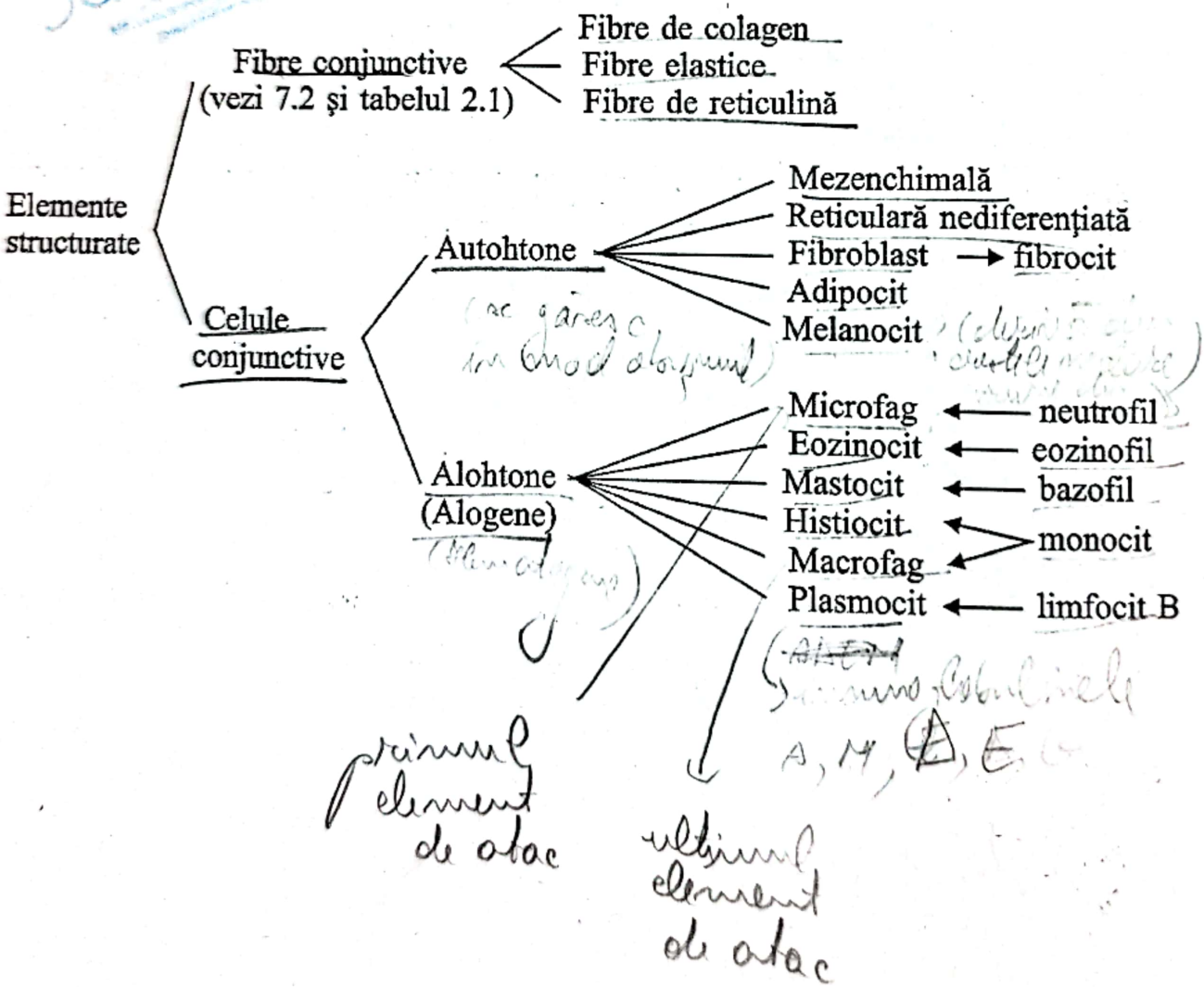
Scanned with OKEN Scanner

2.2. Elementele componente ale ţesuturilor conjunctive propriu-zise

Ţesuturile conjunctive sunt formate din : *substanţă fundamentală* şi *elemente structurate (fibre conjunctive* şi *celule conjunctive).*

În cadrul celulelor conjunctive, vor fi descrise celula *endotelială* şi cea *mezotelială* pentru faptul că provin din celula mezenchimală nediferenţiată şi păstrează unele caracteristici ale acesteia.

Substanţa fundamentală
(vezi 7.3)



Tabelul 2.1. ***Fibrele țesutului conjunctiv***
(caractere morfo-fiziologice)

Denumirea fibrei	Aspecte morfologice (microscopie optică și electronică)	Alte caractere	Compoziție chimică	Răspândire, rol
De colagen (fibre albe)	– afinitate pentru coloranți acizi (eosină, rezorcină, picrofuxină); – învelite de o teacă, separate de substanța fundamentală prin spații perifibrilare; – tendință naturală de asociere; coloane, fascicule, lame orientate în mai multe planuri; – alcătuite din fibrile cu structură periodică, fiecare cu Φ de 64 nm.	– digerate de pepsină, acizi slabi, colagenază bacteriană; – se înmulțesc în țesutul conjunctiv îmbătrânit și provoacă colagenaza; – prin fierbere se transformă în gelatină.	– proteina specifică este colagenul + 19 aminoacizi + + glucide cu rol în menținerea stabilității; provine din tropocolagen format din trei lanțuri răsucite în triplu helix; colagenul prin încălzire, se retractă.	– prezente în toate țesuturile conjunctive, în capsule, derm, tendoane, cornee, cartilaje, oase.
De reticulină (precolagene)	– evidențiabile prin impregnări argentice; PAS pozitive – diametrul de 0,3-0,5 μm, scurte și groase; – înrudite cu colagenul: în scleroză (îmbătrânire) se transformă în colagen; colagenul, sub acțiunea hialuronidazei, se transformă în reticulină; reticulina, sub acțiunea aldolazei, se transformă în colagen; ambele sunt formate din protofibrile.		– proteina specifică = reticulina (scleroproteină).	– intră în structura țesutului reticular; – formează stroma și citoreticulul organelor hematoformatoare, glandelor endocrine, organelor parenchimatoase.
Elastice (fibre galbene)	– evidențiabile prin colorații specifice cu orceină (în roșu-brun); – prin rupere se răsucesc; – monofibrilare, subțiri; – formează lame prin asociere; – microfibrilele au Φ de 40-140Å, periodicitate variabilă; sunt unite prin ciment glicoprotidic, al cărui caracter hidrofil joacă rol important în elasticitatea fibrelor.	– insolubile în apă, alcool, rezistență la acțiunea fermenților, alcoolilor, acizilor; – diminuă cu înaintarea în vârstă.	– proteina specifică este elastina, sensibilă la acțiunea elastazei bacteriene și pancreatice; fixează ionii de Ca , odată cu înaintarea în vârstă, ducând la mineralizarea pereților vasculari.	– prezente în țesutul conjunctiv lax, peretele arterelor mari, pulmoni, piele, tendoane, peretele organelor care își modifică volumul (uter, stomac, ingluvie, prestomace, vezică urinară).
Oxitalanice (preelastice)	– descrise de Fullmer și Lillie în 1958; – au proprietatea de a rezista la hidroliza acidă; – nu se colorează cu metodele obișnuite; – sunt considerate produși intermediari de organizare macromoleculară între colagen și elastină	– sunt rezistente la acțiunea elastazei.	– sunt de natură proteică; conțin și o fracțiune glicoproteică.	– sunt prezente în organe care nu permit prea multă elasticitate: gingii, tendoane, țesuturi mucoide.

Scanned with OKEN Scanner

2.2.1. Celulele conjunctive

Sunt clasificate în *autohtone* şi *alohtone (alogene)*. Cele alohtone se mai numesc hematogene, deoarece provin din sânge prin *diapedeza* (trecerea) peretelui capilar, şi ajunse în ţesut îşi exercită funcţiile (fig. 2.2).

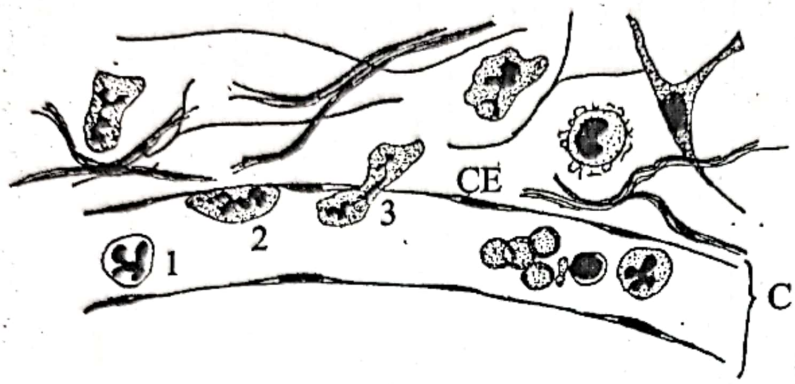


Fig. 2.2. ***Diapedeza (originea celulelor conjunctive alohtone – emigrate)***: 1-neutrofil; 2- marginaţia neutrofilelor; 3 – trecerea; CE - celula endotelială; C - capilar.

Sunt proprii ţesutului conjunctiv şi se formează, evoluează şi îşi manifestă funcţiile în ţesutul conjunctiv lax. Deşi sunt diferenţiate morfologic, au caractere comune: origine mezoblastică, capacitatea de a se divide, prezenţa unui «film» polizaharidic pe suprafaţa plasmalemelor, majoritatea participând la edificarea substanţei intercelulare şi a fibrelor conjunctive şi au capacitatea de a se mobiliza pentru apărarea organismului etc. Diferenţierea morfologică este determinată de mediul în care trăiesc şi de capacitatea lor de mobilizare. Celulele conjunctive îndeplinesc variate funcţii: *mecanică*, de apărare prin *fagocitoză*, *ultrafagocitoză*, *pinocitoză* şi *elaborare de anticorpi*, *funcţii de sinteză* (proteino-, glucido-, lipo- şi pigmentogeneză), *funcţii de citogeneză* (pot genera alte tipuri de celule) şi *metaplazice* (se pot transforma în alte varietăţi de celule conjunctive). Unele celule autohtone controlează homeostazia ţesutului conjunctiv (ex.: fibrocitele controlează agregarea substanţei fundamentale şi a fibrelor; mastocitele influenţează activitatea lipogenetică). În condiţii patologice, celulele conjunctive proliferează, formând tumori.

Activitatea celulelor conjunctive este influenţată de numeroşi factori: *fizici, chimici, nervoşi, umorali*. Hormonii tireo- şi gonadotropi, estrogenii, tiroxina, insulina, hormonii medulosuprarenali etc. stimulează activitatea fibroblaştilor, mastocitelor, adipocitelor. Alţi hormoni (ACTH) inhibă activitatea unor celule conjunctive, iar alţii (ex.: vasopresina, hormonii corticosuprarenalieni) stimulează lipoliza.

Celulele autohtone (proprii) ale ţesutului conjunctiv sunt reprezentate de: *celula mezenchimală, celula reticulară nediferenţiată, fibroblastul* ⟶ *fibrocitul, adipocitul* şi *melanocitul*.

Celulele alohtone (alogene, emigrate) ale ţesutului conjunctiv sunt: *microfagul, eosinocitul, mastocitul, plasmocitul, histiocit* ⟶ *macrofag* (fig. 2.3).

Scanned with OKEN Scanner

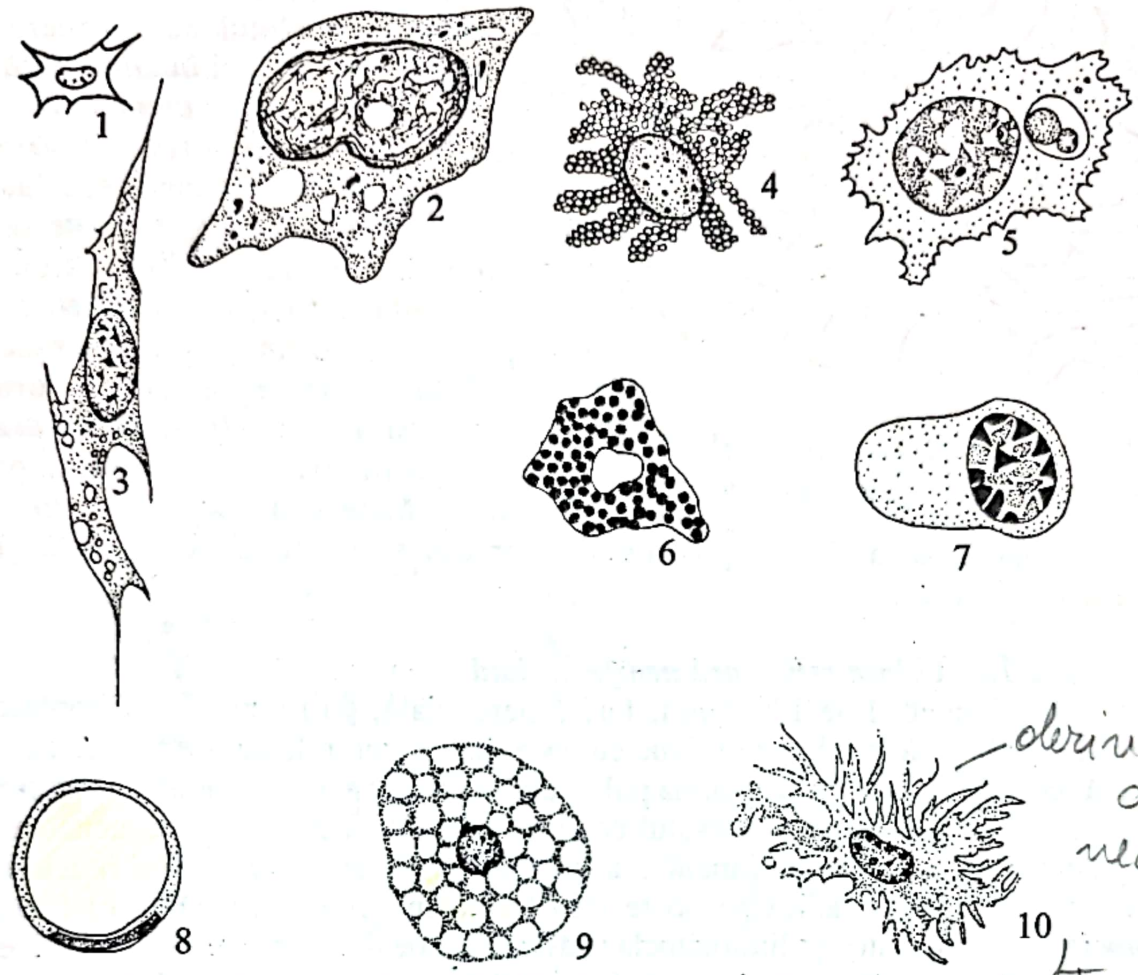


Fig. 2.3. ***Celulele conjunctive*** : 1-celula mezenchimală ; 2-celula reticulară nediferenţiată ; 3-fibroblast ; 4-histiocit ; 5-histiocit care a fagocitat (macrofag) ; 6-mastocit ; 7-plasmocit ; 8-adipocit unilocular ; 9-adipocit multilocular ; 10-melanocit.

În cadrul celulelor conjunctive sunt incluse *celula endotelială* şi *celula mezotelială* (vezi ţesutul *seromembranos*), pentru originea lor comună din celula mezenchimală.

2.2.1.1. Celula mezenchimală

Este de formă stelată (fig. 2.4), cu citoplasma bazofilă bogată în mitocondrii şi vacuole, cu nucleul sferic sau oval, situat central, cu 1-2 nucleoli şi cromatină pulverulentă. Prin prelungiri, stabileşte legături contigui cu congenerele, realizând o reţea cu ochiuri de diferie mărimi, în care se dispune substanţa fundamentală a ţesutului. În stadiul embrionar este predominant. La adult se reduce numeric şi se situează pe lângă vase. În organismele adulte, îşi păstrează capacitatea de proliferare, migrare şi diferenţiere.

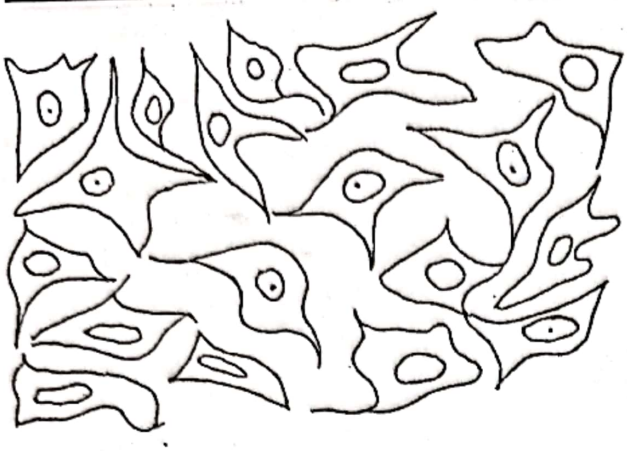


Fig. 2.4. *Celule mezenchimale ce vin în raporturi de contiguitate prin prelungiri*

Celula mezenchimală îndeplineşte funcţii multiple: *a) rol mecanic:* formează scheletul de susţinere al embrionului; *b) rol în citogeneză:* generează celulele *„autohtone"* ale ţesutului conjunctiv, celulele musculare, celulele sanguine, celulele endoteliale, celulele mezoteliale, elementele sistemului reticulo-histiocitar; *c) rol metaplazic:* se poate transforma în celulă osoasă, celulă cartilaginoasă, celulă tendinoasă etc.; *d) rol de apărare* îndeplinit prin fagocitoză şi prin sinteză de anticorpi; *e) rol de sinteză:* participă la sinteza proteoglicanilor din substanţa fundamentală şi a proteinelor fibrilare.

2.2.1.2. Celula reticulară nediferenţiată

Are diametrul de 18-20 μm, formă neregulată, cu prelungiri. Citoplasma bazofilă este bogată în ribozomi. Nucleul este dispus central, de formă sferică sau ovalară, cu 1-2 nucleoli cu cromatina pulverulentă. În organismele adulte predomină în organele hematopoetice. În ţesutul conjunctiv adult îşi păstrează capacitatea de citogeneză. Are următoarele funcţii : a) participă la *formarea ţesutului reticular;* *b)* are *rol metaplazic,* adică se poate transforma în celulă adipoasă; c) funcţie *hemoclazică* (eritrocito- şi limfocitoclazică) : înglobează prin fagocitoză şi digeră eritrocite şi limfocite îmbătrânite ; *d)* funcţie *de apărare,* prin mecanisme celulare şi umorale (sinteză de anticorpi) ; *e)* funcţie *metabolică :* participă la metabolismul glicoproteinelor, calciului, fosforului ; *f)* funcţie *adipopexică :* are capacitatea de a înghiţa şi depozita lipide.

2.2.1.3. Fibroblastul ⟶ fibrocitul

Fibroblastul este celula conjunctivă cea mai răspândită în ţesuturile conjunctive – derivă în perioada embrionară din celula mezenchimală.

În ţesuturile conjunctive fibroblastul se prezintă sub două forme, cu particularităţi morfofuncţionale distincte : *fibroblastul activ,* angajat în procese metabolice specifice, şi *fibroblastul în repaus funcţional,* denumit şi *fibrocit* (fig. 2.5).

Fibroblastele sunt celule mai puţin mobile, ele se deplasează foarte încet în ţesuturile conjunctive. În anumite condiţii, sunt mobilizate şi direcţionate de *factori chemotactici* din matricea extracelulară, fibronectină, colagen, laminină, peptide derivate din elastină sau tropoelastină.

Fibroblastele active sunt celule cu numeroase prelungiri, cu citoplasma abundentă şi bazofilă, cu un aparat de sinteză dezvoltat, reprezentat prin reticul endoplasmic rugos cu cisterne dilatate, mărginite de numeroşi poliribozomi, un complex Golgi perinuclear, numeroase mitocondrii lungi şi subţiri, lizozomi, centru celular, microfilamente şi microtubuli. Microfilamentele sunt bine dezvoltate în

Scanned with OKEN Scanner

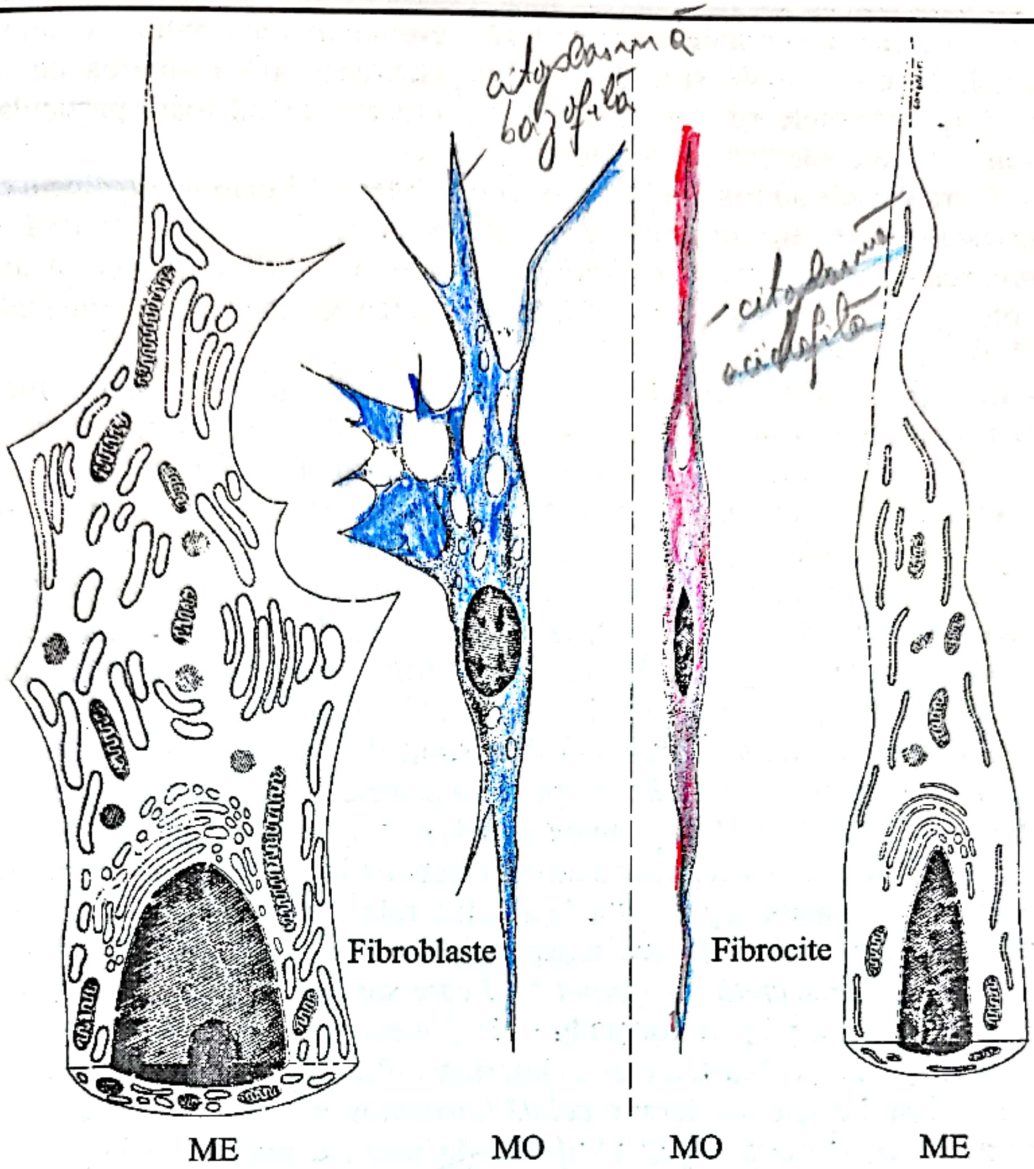


Fig. 2.5. ***Fibroblastele şi fibrocitele la MO şi ME.*** Organitele sintezei şi secreţiei sunt foarte dezvoltate în fibroblast.

fibroblastele din jurul plăgilor pe cale de vindecare. Denumite şi »*miofibroblaste*», ele joacă un rol important în procesul de contracţie şi refacere a plăgilor. Miofibroblastele sunt, de asemenea, prezente şi în axul vilozităţilor intestinale.

Nucleul fibroblastului, bogat în *eucromatină,* este situat central şi cu nucleoli vizibili. Membrana fibroblastelor are distribuite pe toată suprafaţa, receptori specifici pentru unele molecule din mediul extracelular. Dintre aceştia, mai cunoscuţi sunt receptorii pentru *insulină,* pentru *lipoproteine cu densitate mică (LDL – Low Density Lipoproteins)* sau pentru factorul de creştere a epidermului. Formarea complexelor LDL – receptori este o treaptă importantă şi necesară în reglarea sintezei şi degradării colesterolului.

Fibroblastul în repaus funcţional sau *fibrocitul* este mai mic decât fibroblastul activ, prezintă un corp alungit şi cu capete efilate. Nucleul alungit este *heterocromatic* iar citoplasma prezintă organite celulare reduse. Mai bine exprimat apare compartimentul lizozomal, reprezentat prin autofagozomi. El intervine în procese

Scanned with OKEN Scanner

de digestie localizată a organitelor de sinteză, devenite inutile fibroblastului în repaus funcţional. În condiţii de stimulare, când este necesară formarea de matrice conjunctivă, fibrocitele se transformă în fibroblaste, luând toate particularităţile morfofuncţionale caracteristice ale acestora.

Fibroblastele au funcţia principală de a sintetiza şi secreta proteinele fibroase ale matricei extracelulare cum sunt : *macromoleculele de colagen* şi *elastină, precum şi complexele glicoproteice de tipul glicozaminoglicanilor,* proteoglicanilor şi glicoproteinelor structurale, care intră în alcătuirea substanţei fundamentale (vezi 7.2 şi 7.3).

Colagenul. Cea mai abundentă proteină din ţesuturile conjunctive se sintetizează sub forma unui precursor *solubil, procolagenul*, la nivelul reticulului endoplasmic *rugos (4-10 minute)*, de unde trece în aparatul Golgi (40-60 minute), ajunge la veziculele secretorii (60 minute) şi este eliberat din celulă, prin exocitoză, în *matricea extracelulară.*

Elastina este sintetizată de către *fibroblaste* sub formă de moleculă proteică precursoare, denumită *protoelastină,* la nivelul RER, de unde urmează aceeaşi cale intracelulară ca şi procolagenul. Exocitată în mediul extracelular, ea se maturează în *elastină*, se înconjură de microtubuli şi se asamblează pentru a forma fibra elastică.

Glicozaminoglicanii, proteoglicanii sunt, de asemenea, secretaţi de fibroblaste ; ei sunt sintetizaţi în RER (componenta proteică), încep glicozilarea în reticul şi o continuă în complexul Golgi, unde se sulfatează.

Glicoproteinele structurale sunt reprezentate în cea mai mare proporţie prin *fibronectină*. Aceasta are capacitatea de a stabili relaţii cu unele macromolecule ca : glicozaminoglicanii, colagenul sau receptorii de pe suprafaţa macrofagelor.

Fibroblastele *secretă interferoni tip I* care sunt glicoproteine. Asemănător cu interferonul leucocitelor, interferonul fibroblastelor este, însă, codificat de gene diferite.

Activitatea fibroblastelor este puternic influenţată de hormoni. Sub acest aspect fibroblastul este considerat o *celulă hormonosensibilă*. Astfel, se ştie că unii hormoni ca *hidrocortizonul şi ACTH-ul inhibă* sinteza de precursori proteici fibrilari (procolagen şi proelastină), împiedicând procesele de cicatrizare. Datorită efectului de inhibare a sintezei de precursori fibrilari, cortizonul este utilizat în tratamentul bolilor de colagen. STH-ul stimulează proliferarea fibroblastelor şi sinteza de colagen. Tiroxina scade mitozele fibroblastului, iar hormonii sexuali stimulează proliferarea fibroblastică (testosteronul) sau activitatea de sinteză a precursorilor din substanţa fundamentală (estrogenii).

2.2.1.4. Adipocitul

Celula grasă (*adipocitul* sau *lipocitul*), care intră în constituţia ţesutului adipos, se întâlneşte frecvent în ţesutul conjunctiv areolar. În unele regiuni ale corpului, celulele sunt grupate în număr mare, constituind ţesutul adipos.

Origine. Celulele grase ale ţesutului adipos derivă din celulele mezenchimale din care iau naştere şi fibroblastele. Din celulele mezenchimale se vor forma *lipoblaste,* mult asemănătoare fibroblastelor (fig. 2.6).

Scanned with OKEN Scanner

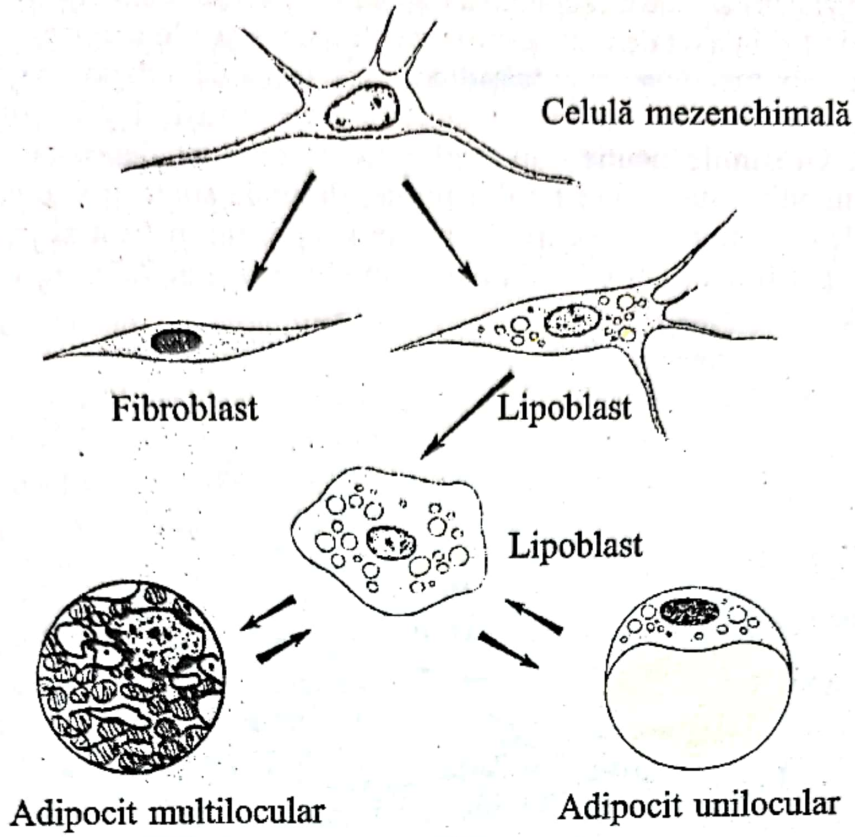


Fig. 2.6. ***Formarea adipocitelor.*** *Când se mobilizează o mare cantitate de lipide, adipocitul unilocular se întoarce la stadiul de lipoblast*

Există două tipuri de celule adipoase şi, implicit, două categorii de ţesut adipos, şi anume: *ţesutul adipos alb-galben sau unilocular* şi *ţesutul adipos brun sau multilocular.*

Adipocitul alb-galben (unilocular) prezintă o culoare modificabilă în funcţie de furajele ingerate, devenind gălbui după consumul de morcov (carotinoizi). Are un diametru variabil, cuprins între 50 şi 150 μm, forma rotunjită, când este izolată, şi unghiulară, prin presiune reciprocă, atunci când se află în grup compact. Cea mai mare parte a matricei celulare este ocupată de o unică picătură lipidică ce împinge la periferie nucleul şi citoplasma; aceasta din urmă apare foarte îngustată, dând impresia unui *inel cu pecete* în coloraţia HE. La nivel ultrastructural se observă însă că în jurul incluziunii lipidice mari pot apărea picături de grăsime mici şi izolate. Atât bula lipidică unică, cât şi micile picături de grăsime nu sunt înconjurate de *endomembrane.* Partea cea mai bine reprezentată a citoplasmei se află lângă nucleu, unde se găsesc şi organitele celulare reprezentate prin mitocondrii, complex Golgi, reticul endoplasmic rugos sărac, rari ribozomi liberi. În restul matricei celulare ce înconjură picătura lipidică mai apar microtubuli, microfilamente şi un reticul endoplasmic neted, slab dezvoltat.

Ţesutul adipos alb este cel mai răspândit în organism. Celulele adipoase ce îl constituie se aşează în grupuri de-a lungul vaselor sanguine, formând lobi şi paniculi adiposi, separaţi între ei prin septuri fibroase. El apare bine reprezentat în hipodermul pielii, unde constituie un strat izolator ce previne pierderea de căldură prin tegument, în

Scanned with OKEN Scanner

jurul unor organe principale ca ochiul, suprarenalele etc. Ţesutul adipos alb este foarte bine vascularizat şi inervat de filete nervoase colinergice şi adrenergice.

Principala *funcţie* a ţesutului adipos este aceea de a depozita şi metaboliza grăsimile neutre sau trigliceridele (esteri de acizi graşi şi glicerol) la nivelul adipocitelor. Grăsimile neutre sau trigliceridele ce sunt depozitate (proces de *lipogeneză)* în adipocite provin fie din furaje, de unde sunt dirijate către celulele grase prin *chilomicroni,* fie din trigliceridele sintetizate în ficat şi transportate la adipocite, fie pot fi sintetizate în adipocite din glucoză (fig. 2.7).

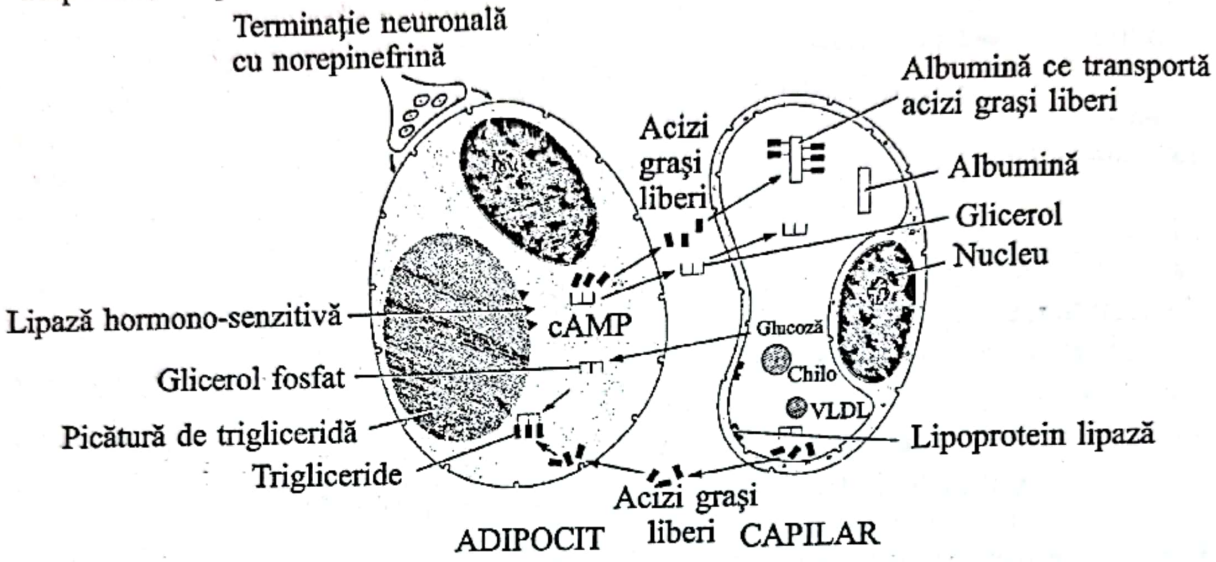


Fig. 2.7. ***Schema circuitului permanent al grăsimilor între adipocit şi sânge***

Chilomicronii, molecule lipoproteice mari, cu diametrul de peste 3 μm, sunt formaţi în intestin. O parte din gliceridele şi acizii graşi ce rezultă în intestin din scindarea trigliceridelor alimentare, prin acţiunea lipazei pancreatice, formează micelii ce sunt absorbite de enterocite, celule în care se realizează apoi reesterificarea şi refacerea trigliceridelor.

Lipoproteinlipaza hidrolizează chilomicronii şi lipoproteinele plasmatice desfăcând trigliceridele în *acizi graşi* şi *glicerol*, care intră în celula grasă, unde se reunesc şi se depozitează apoi tot ca trigliceride în citoplasmă.

În afară de sistemul de transport al lipidelor exogene (ingerate) prin chilomicroni, există şi un sistem endogen de transport, reprezentat prin lipoproteine sintetizate în ficat. Acestea sunt VLDL *(very low density lipoprotein),* principalul transportor IDL *(intermediated density lipoprotein),* LDL *(low density lipoprotein)* şi HDL *(high density lipoprotein).* Acest sistem endogen transportă trigliceridele şi colesterolul format în ficat către ţesuturile extrahepatice.

Din adipocite, acizii graşi ce rezultă în urma *lipolizei,* prin acţiunea *trigliceridlipazei,* părăsesc celula şi trec în sânge, unde circulă legaţi de albumine.

Lipoliza este stimulată de *catecolaminele* şi *norepinefrina* circulantă, via beta$_1$-receptor adrenergeic sau de unii hormoni ca ACTH, TSH, LH, via adenilatciclază, ca şi de supraalimentaţie. Procesul de termogeneză este stimulat de frig, care determină eliberarea de *norepinefrină* în ţesuturi de către filetele nervoase simpatice ce înconjură celulele grase. Norepinefrina activează lipaza

Scanned with OKEN Scanner

hormonosensibilă din adipocite, mobilizând trigliceridele, pe care le hidrolizează în acizi graşi şi glicerol. *Insulina* şi *prostaglandina E*, ca şi inaniţia sau stresul, diminuează activitatea lipazei hormonosensibile, deci a procesului de lipoliză, prin inhibarea formării AMP_c.

Adipocitul brun multilocular are culoare închisă datorită unui conţinut ridicat de citocrom în mitocondriile din citoplasmă. Celula adipoasă brună, de formă poligonală sau uşor rotunjită este bogată în picături lipidice izolate, de mărimi diferite, de unde denumirea de multiloculară. Celula are un nucleu situat central, un număr crescut de mitocondrii cu criste numeroase lamelate, ribozomi în număr mare şi un reticul endoplasmic slab dezvoltat (fig. 2.8).

Ţesutul adipos brun este dezvoltat la animalele care hibernează, la care este şi denumit impropriu *glanda hibernală*.

Celulele grase, prin asociere (grupare) împreună cu substanţa fundamentală şi fibrele de reticulină formează ţesuturile *adipoase albe* şi *brune*.

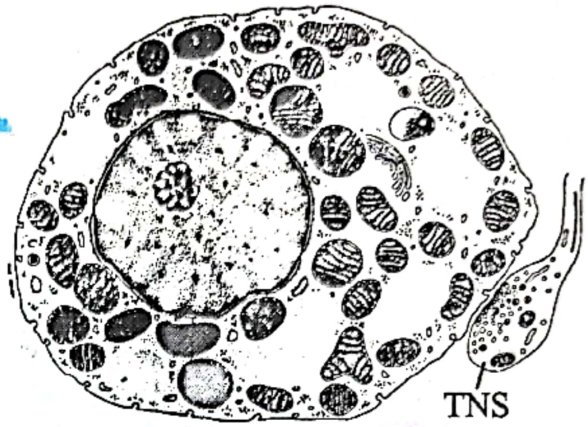


Fig. 2.8. ***Adipocitul multilocular cu frecvente picături de lipide şi numeroase mitocondrii. Terminaţia nervoasă sinaptică (TNS)***

2.2.1.5. Melanocitul (celula pigmentară)

Este întâlnită în stratul pigmentar al retinei, coroidă, piamater, epiteliul anterior al irisului, stratul bazal şi stratul Malpighi al epidermei, în derm.

Originea celulei pigmentare este variată : în *crestele neurale* (celulele *melanofore* din derm), *celula mezenchimală, fibroblast, macrofage*.

Celula pigmentară are forma stelată, cu numeroase prelungiri, nucleul central, sferic şi mic, citoplasma încărcată cu granule de pigment răspândite atât în corpul celular, cât şi în prelungiri (fig. 2.9). Granulaţiile pot fi colorate în *negru-brun* (pigment melanic), *galben* (pigment lipofuscinic), *roşu* la animalele inferioare. Pigmentul poate fi sintetizat în celule numite *pigmentocite,* sau poate fi acumulat

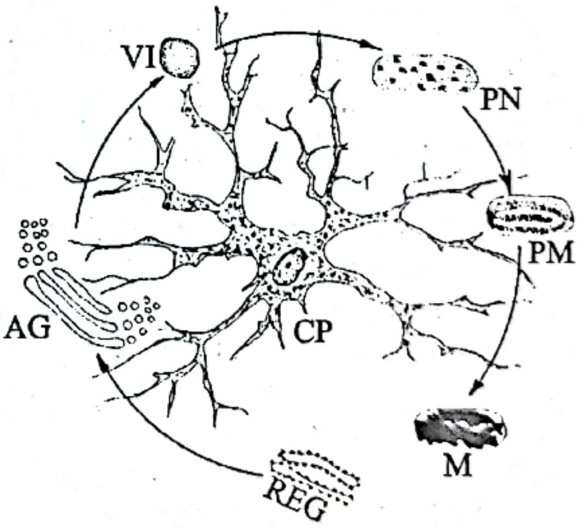


Fig. 2.9. ***Celula pigmentară (melanocitul - CP); formarea melanozomilor şi melanogeneza*** : REG-reticul endoplasmic granular ; AG-aparat Golgi ; VI-veziculă intermediară ; PN-premelanozom nemelanizat ; PM-premelanozom melanizat ; M-melanozom

Scanned with OKEN Scanner

prin *pigmentopexie* (capacitatea de a îngloba şi depozita pigmentul). Pigmentopexia poate fi prezentă şi la celule cu alte funcţii : splenocite, hepatocite, celulele Kuppfer, celule ale SMM, celule nervoase. În celulele pigmentare s-au diferenţiat organite specifice sintezei : ribozomii, reticulul endoplasmic rugos, complexul Golgi, mitocondriile. Celulele pigmentare dau culoarea specifică tegumentului.

2.2.1.6. Microfagul

Este neutrofilul care a realizat diapedeza şi care a trecut prin pasajul lăsat de celulele endoteliale, în ţesutul conjunctiv. Este primul element de atac într-un focar infecţios, se deplasează datorită semnalelor chemotactice şi realizează fagocitoza agenţilor patogeni şi digestia lor în lizozomi. Receptorii microfagului recunosc »*selful*» de »*selful alterat*» şi de »*non self*». Totalitatea microfagelor prezente în cadrul unui proces infecţios acut, realizează *sistemul microfagic*.

2.2.1.7. Eozinocitul

Este eozinofilul sanguin, care trece prin diapedeză în ţesutul conjunctiv, fiind prezent în număr mare în stările alergice şi parazitare (fig. 2.10).

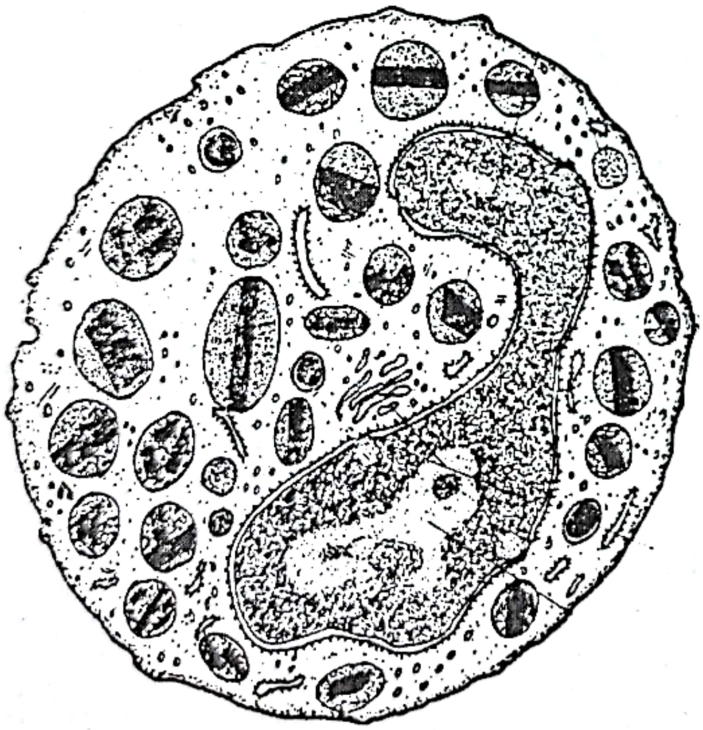


Fig. 2.10. ***Eozinocitul la ME***

2.2.1.8. Mastocitul

Prezenţa în ţesutul conjunctiv a mastocitului a fost semnalată de Erlich (1878). Mastocitele sunt numeroase în lamina propria a mucoaselor, în submucoase, ţesutul conjunctiv lax din peretele uterului, al vezicii urinare, în dermul pielii, de-a lungul vaselor sanguine şi al altor organe.

Pe baza asemănărilor morfologice şi chimice, mastocitele sunt considerate ca *bazofile sanguine* modificate şi migrate din patul vascular în ţesuturile conjunctive.

Mastocitul se colorează metacromatic cu derivaţi bazici de anilină. *Metacromazia* este fenomenul prin care celulele se colorează într-o nuanţă diferită de cea a soluţiei cu care au fost colorate. Astfel, cu *albastru de anilină* sau cu *albastru de toluidină* (care în soluţie au *culoare albastră*), granulaţiile mastocitului

Scanned with OKEN Scanner

se colorează în *roşu*. În ţesuturi, mastocitul se recunoaşte după granulele metacromatice din citoplasmă. De aceea, cele mai folosite tehnici pentru studiul mastocitului, sunt acelea bazate pe utilizarea *coloranţilor metacromatici* ca : *albastru de toluidină, albastru de anilină, violet de genţiana* şi *violet de metil*. Mastocitul are o formă rotundă sau ovală (fig. 2.11), uneori neregulată în ţesutul conjunctiv lax şi alungită de-a lungul vaselor sanguine.

Dimensiunea celulei este de 10-25 μm, sau chiar mai mare. Nucleul este mic (5 μm), oval, *ortocromatic* (*ortocromazia*, se colorează în aceeaşi nuanţă cu cea a colorantului ; ex. în mov cu hematoxilina-mov), rotund sau de formă neregulată, cu cromatina sub formă de grunji şi cu 1-2 nucleoli. În citoplasmă se remarcă numeroase granule metacromatice, care uneori maschează nucleul. Mărimea, forma şi numărul granulelor variază de la o specie la alta sau chiar în diferitele ţesuturi de la acelaşi animal.

Fig. 2.11. ***Aspectul microscopic al mastocitelor*** *(col. albastru de toluidină)*

Citoplasma este săracă în organite celulare, mitocondriile sunt rare, complexul Golgi slab dezvoltat, RER redus.

În schimb, citoplasma conţine numeroase granule cu diametrul de 1-2 μm. Ele se evidenţiază cu albastru de toluidină care le colorează metacromatic în roşu-purpuriu. Fenomenul de metacromazie se datoreşte numeroaselor grupări acide din structura componenţilor granulari. Cea mai mare parte din granulele mastocitare sunt puternic metacromatice şi slab PAS-pozitive şi numai un număr mic dintre ele sunt ortocromatice şi intens PAS-pozitive. Ultrastructural, granulaţiile apar cu un conţinut lamelar concentric sau granular. Deseori în aceeaşi granulă, matricea granulei are un aspect combinat, lamelar periferic şi granular central. Fiecare granulă este delimitată de o endomembrană subţire ce ajută la exocitoza conţinutului, prin fuzionarea cu plasmalema (fig.2.12).

Funcţia mastocitului rezidă în capacitatea granulelor mastocitare de a depozita o serie de mediatori chimici cum sunt : *heparina* (substanţă anticoagulantă), *histamina* (eliberată masiv în alergii), *serotonina (5-hidroxitriptamina 5-HT)* cu acţiune asupra musculaturii netede a bronhiilor, *factorul chemotactic pentru eozinofile* (substanţă reactivă în şocul anafilactic). Datorită acestui fapt, mastocitul este considerat *o glandă endocrină unicelulară*.

Heparina constituie 4 % din greutatea uscată a granulelor mastocitare. Datorită prezenţei ei în celulă, mastocitul a mai primit şi denumirea de »*heparinocit*».

Scanned with OKEN Scanner

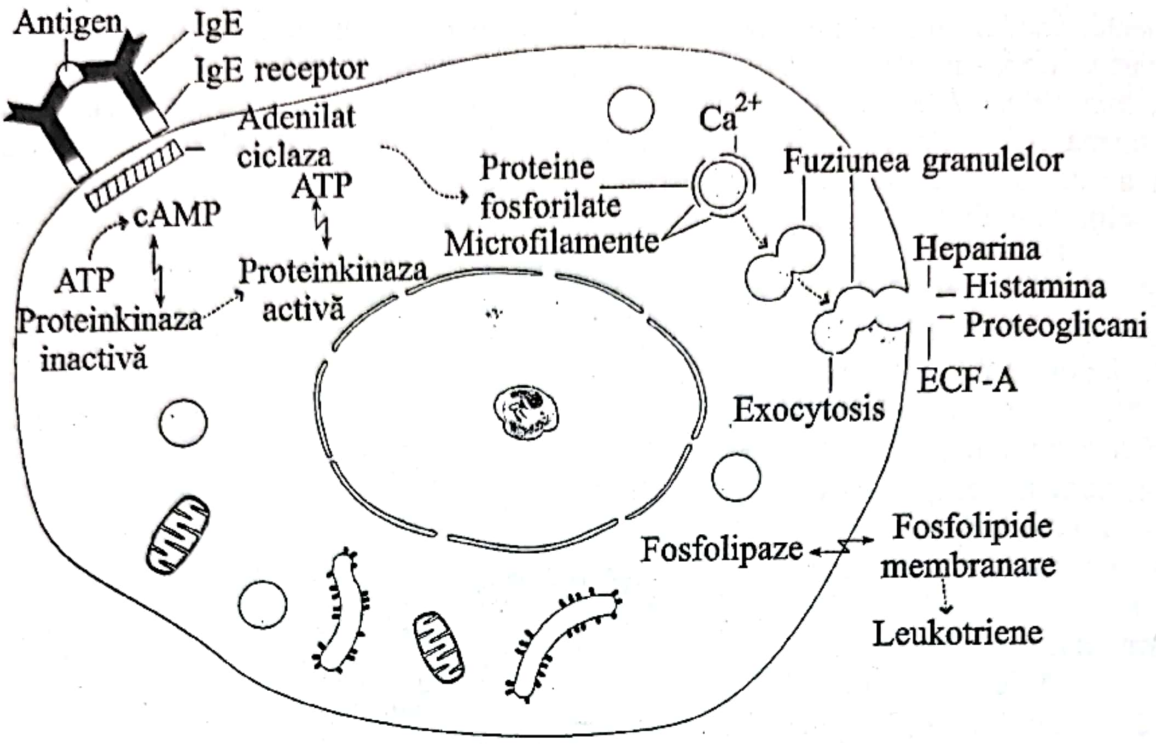


Fig. 2.12. ***Secreţia în mastocit*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Heparina, un glicozaminoglican sulfatat, este depozitată temporar în granulele mastocitare, unde stabileşte legături labile cu moleculele structurale granulare şi cu histamina. Ea are rol anticoagulant. Eliberată din granulele mastocitare, heparina acţionează şi ca factor antilipemic, întrucât determină activarea lipoproteinlipazei (este cofactor al enzimei).

Histamina, derivat al histidinei, este rapid eliberată din granulele mastocitare în diferite infecţii locale sau în unele reacţii imunologice. Ea determină în matricea extracelulară dilatarea vaselor sanguine pe plan local, creşte permeabilitatea peretelui venelor mici, prin contracţia celulelor endoteliale, ceea ce determină desfacerea joncţiunilor strânse dintre acestea, creându-se astfel spaţii largi care facilitează accesul apei, al serum-proteinelor (anticorpi, complement), al microfagelor, la locul leziunii. Ea determină şi contracţia muşchiului neted, în special a celui din bronhiole.

Serotonina (5-hidroxitriptamina 5-HT) este sintetizată şi secretată de către mastocite. Ea acţionează asupra mecanismului musculaturii netede din peretele vascular sau a celei din căile respiratorii producând *vaso-* şi *bronhoconstricţie.*

Factorul chemotactic pentru eozinofile din anafilaxie este un alt mediator chimic eliberat de mastocite, alcătuit din două tetrapeptide, care *atrag eozinofilele din sânge în ţesuturile conjunctive* la locul degranulării mastocitare. Prin enzimele pe care le conţin şi prin prostaglandine, eozinofilele intervin în inactivarea histaminei şi a altor substanţe eliberate în timpul degranulării mastocitare.

Mastocitele sunt implicate în reacţiile alergice de hipersensibilitate imediată, spre exemplu în alergie. În aceste cazuri, la un prim impact cu un anumit tip de *antigeni (alergeni),* plasmocitele secretă *IgE* care se fixează de *receptorul IgE* de la

Scanned with OKEN Scanner

suprafaţa mastocitară. La un nou contact, antigenul formează complexe *antigen-anticorp* pe membrana celulară a mastocitelor (fig. 2.13). Ca urmare, apare lezarea membranei şi eliminarea fie a granulelor, fie a conţinutului lor în mediul extracelular. Mediatorii chimici din granule acţionează specific ducând la apariţia semnelor clinice carcteristice reacţiilor de hipersensibilitate imediată : edem, durere, febră, şoc.

2.2.1.9. Macrofagele

Sunt o varietate de celule conjunctive tot atât de numeroase ca şi fibroblastele sau chiar mai numeroase în ţesuturile conjunctive puternic vascularizate. Ele se întâlnesc în toate tipurile de ţesut conjunctiv, dar sunt localizate cu precădere în apropierea contactului cu mediul extern : lamina propria a organelor cavitare, în jurul vaselor, în dermul pielii sau în stroma organelor parenchimatoase.

Iau naştere din celulele stem din măduva hematogenă care se diferenţiază în precursori ai monocitelor medulare. Din compartimentul medular, *monocitele* trec în sânge, unde rămân cca 48-72 ore, apoi, prin diapedeză, ajung în ţesutul conjunctiv unde se transformă în macrofage tisulare, şi îşi desfăşoară activităţile specifice (fig. 2.14).

Faptul că macrofagele nu apar în ţesutul conjunctiv decât după ce a fost vascularizat, confirmă originea lor din compartimentul medular.

Durata de viaţă a macrofagelor în ţesutul conjunctiv este de 20-100

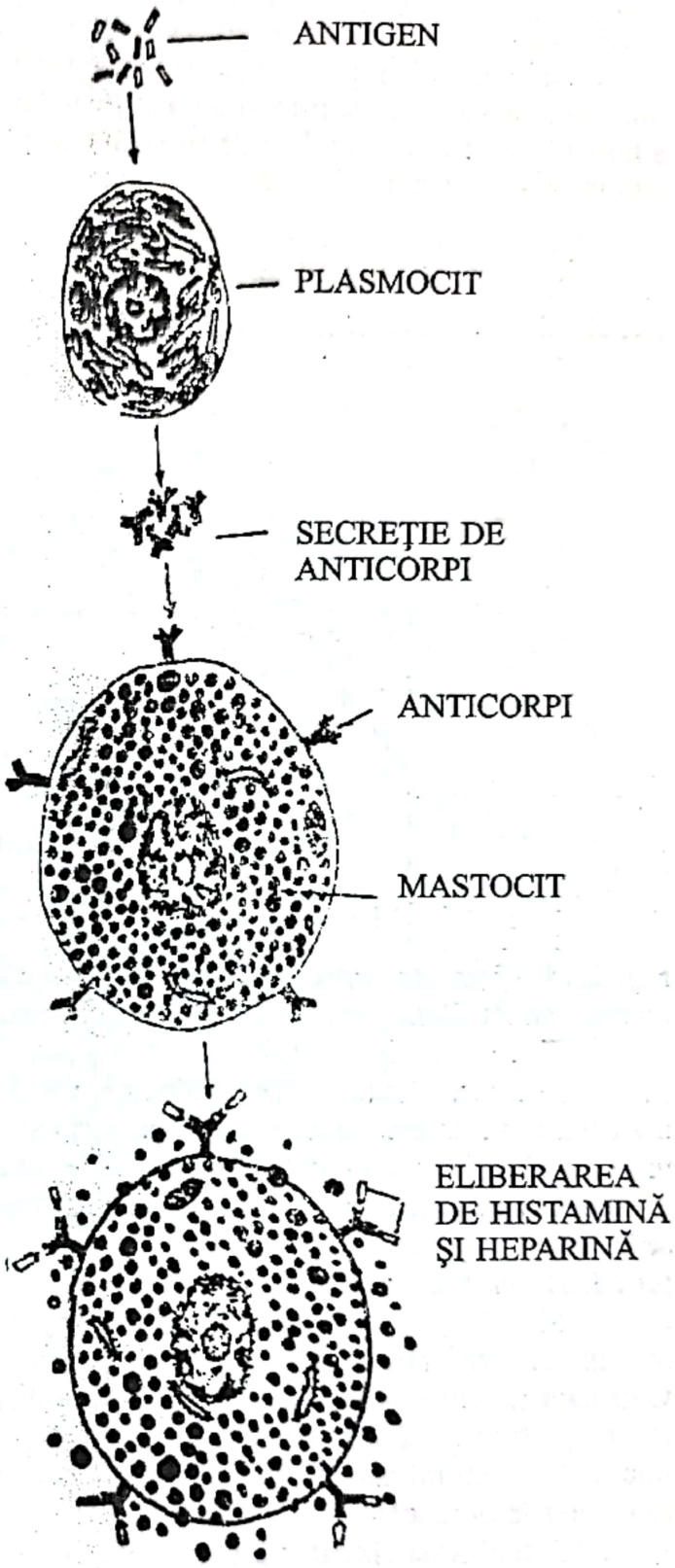


Fig. 2.13. ***Secvenţele care conduc la degranularea mastocitelor***

Scanned with OKEN Scanner

zile, iar capacitatea lor de proliferare depinde direct de necesităţile organismului. În condiţii normale, populaţia de macrofage este menţinută în principal prin *self-replicare ;* rezultă noi celule, care mai poartă şi denumirea de *histiocite.* O parte din macrofagele tisulare provin din monocitele sanguine. Capacitatea de proliferare a macrofagelor este stimulată de substanţe secretate de *limfocitele T,* aspect important în procesele imunologice.

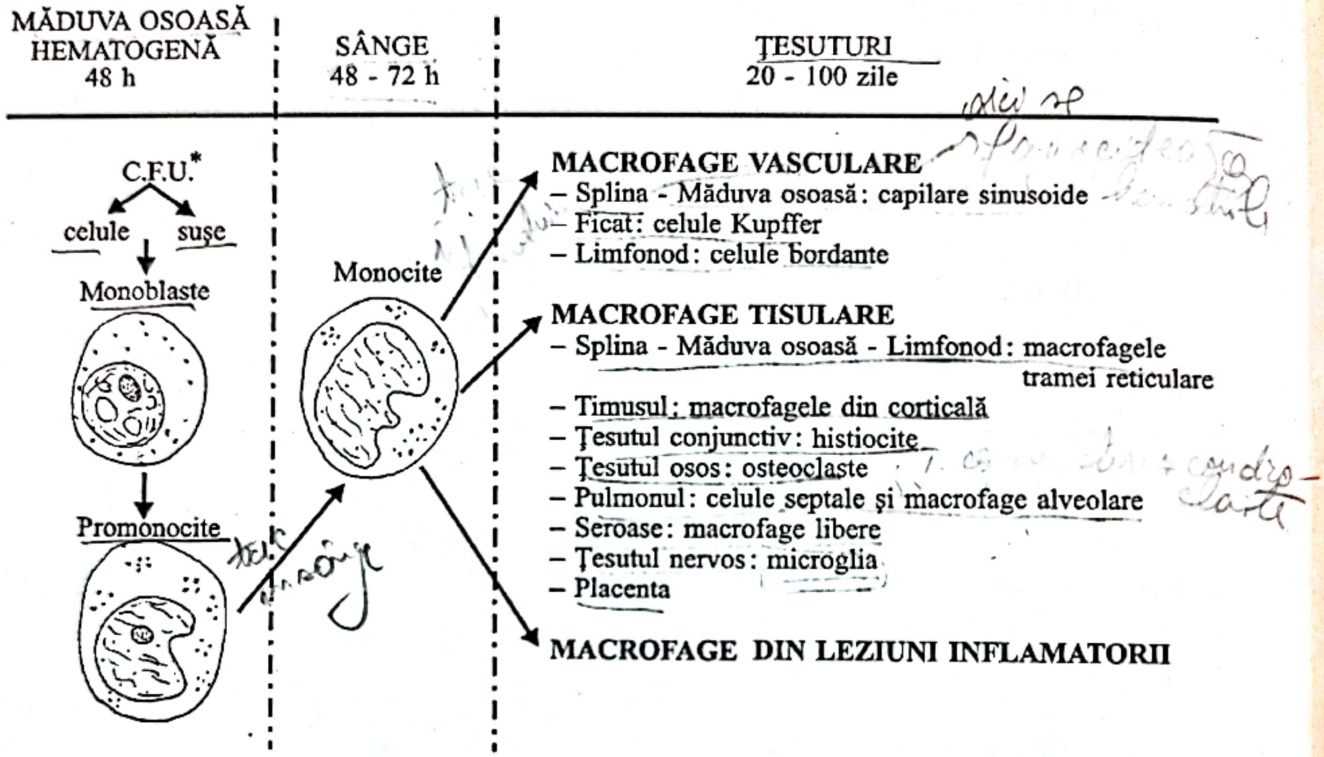


Fig. 2.14. ***Originea şi principalele localizări ale celulelor din sistemul macrofagic monocitar.*** **Colony forming unit (unitate formatoare de colonii)*

În unele circumstanţe patologice, ca răspuns la pătrunderea în organism a unor microbi (tuberculoză) sau a unor corpi străini, macrofagele pot fuziona, dând naştere la *celule gigante multinucleate.* Ele au 20-50 de nuclei cuprinşi într-o masă citoplasmatică unică. În alte cazuri, în jurul unor focare de infecţie ele se agregă şi se unesc prin joncţiuni strânse. Întrucât se aseamănă cu celulele epiteliale, mai poartă denumirea de *celule epitelioide.*

Macrofagele provin din monocite (fig. 2.15) au diametrul cuprins între 15-50 μm, dimensiune direct dependentă de activitatea lor funcţională. Macrofagele mici sunt inactive, în timp ce cele mari sunt deosebit de active. Forma lor este rotundă sau ovalară şi prezintă prelungiri scurte. Nucleul macrofagului este relativ mic, aşezat central sau excentric, rotund sau cel mai adesea reniform. Cromatina este heterocromatică.

Citoplasma abundentă conţine organite celulare numeroase, dintre care un aparat vacuolar bine dezvoltat (fagozomi, lizozomi primari, secundari). Prezenţa lizozomilor secundari este responsabilă de aspectul *spumos*, caracteristic macrofagului. Acest aspect este mai evident la macrofagele foarte active. În citoplasmă se găsesc de asemenea numeroase microfilamente alcătuite în principal din molecule de

Scanned with OKEN Scanner

actină (100 de molecule de actină pentru o moleculă de miozină). Ele intervin atât în procesele de deplasare a macrofagelor cât şi în formarea de pseudopode necesare asigurării funcţiei de fagocitoză sau de înlesnire a fuziunii lizozomilor primari cu fagozomii.

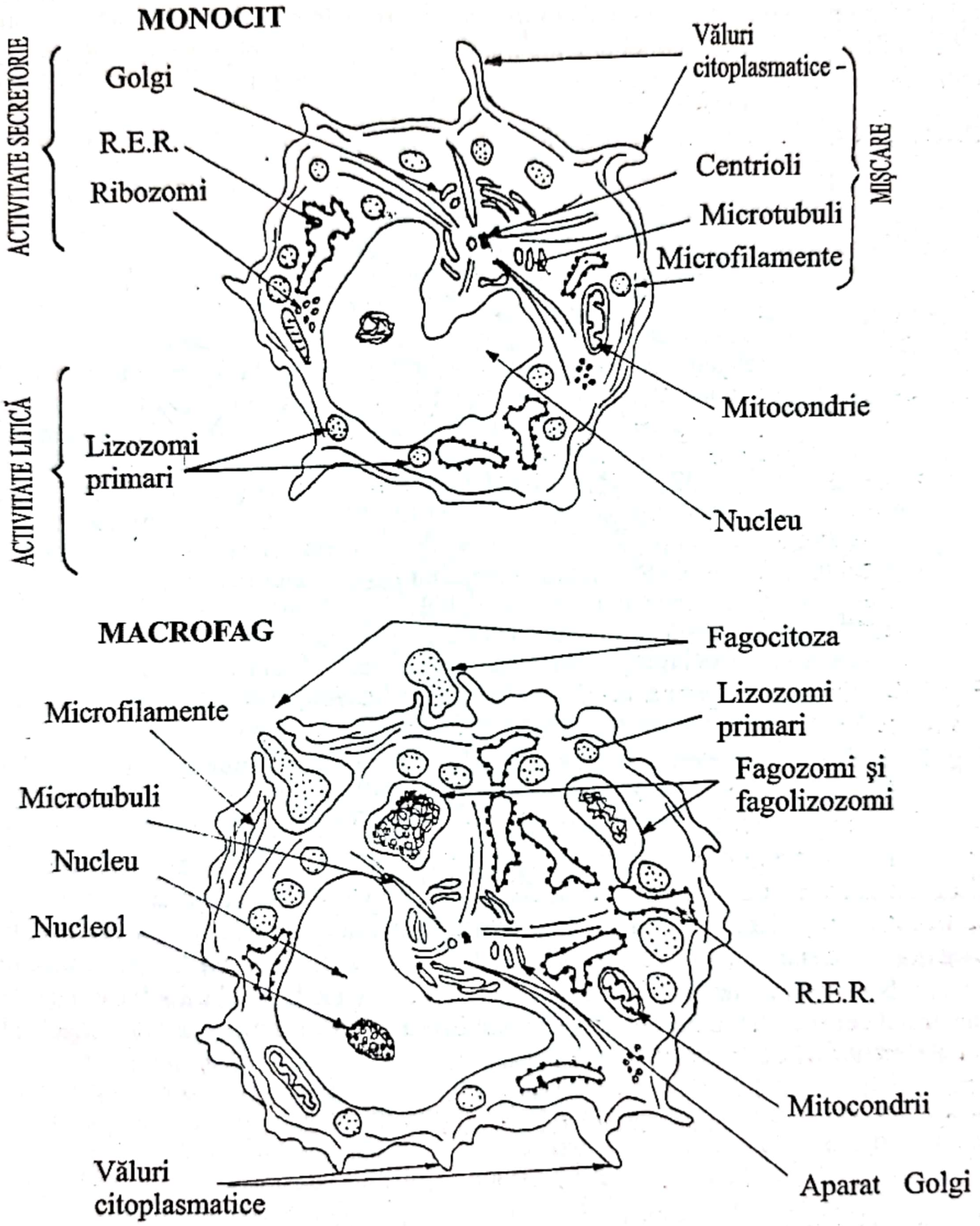


Fig. 2.15. ***Morfologia monocitului circulant şi a macrofagului la M.E***

Membrana celulară examinată la microscopul cu *scanning* prezintă numeroase prelungiri în deget de mănuşă.

Membrana prezintă receptori pentru *fracţiunea Fc* a imunoglobulinei G (*receptori Fc*), precum şi receptori pentru imunoglobulina M şi cel de al treilea component al complementului (*receptori* C'_3). Se apreciază că macrofagul foarte activ poate prezenta pe suprafaţa sa circa *8 milioane de receptori.*

Proprietăţile fundamentale ale macrofagelor sunt : *diapedeza, mobilitatea, capacitatea de fagocitoză, transformarea* şi *secreţia* (fig. 2.16).

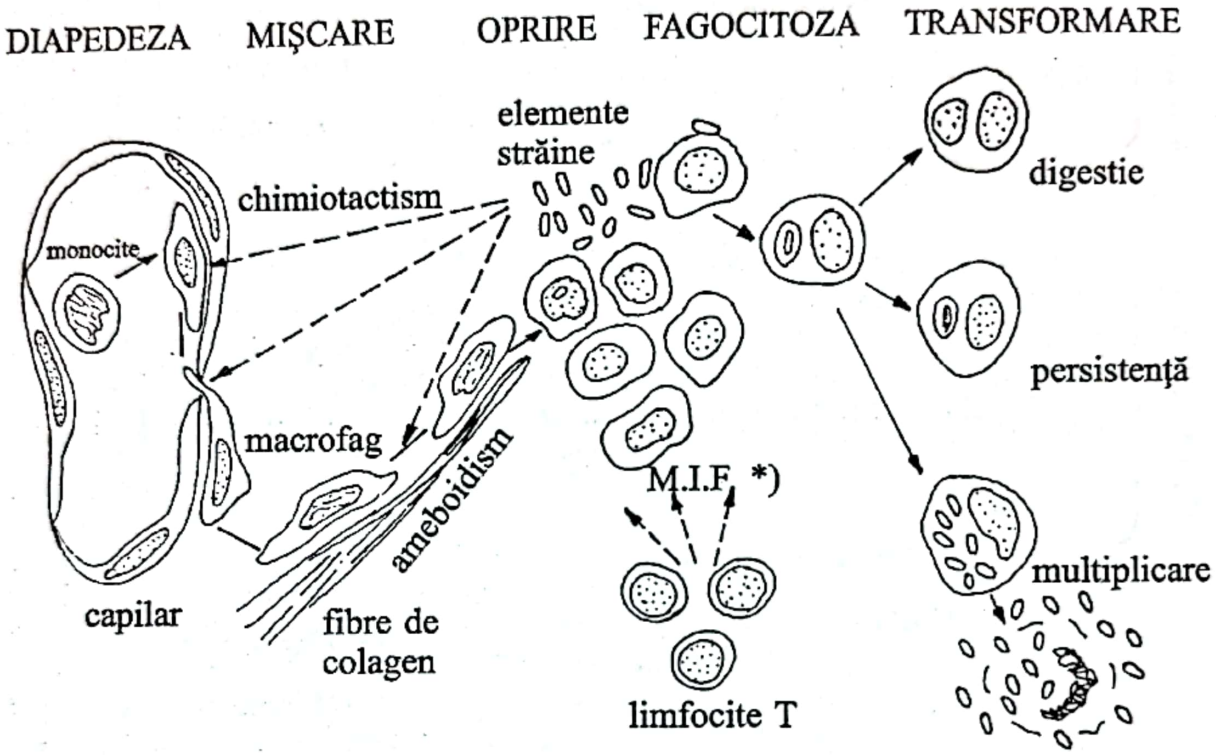


Fig. 2.16. ***Principalele proprietăţi ale celulelor din sistemul macrofagic monocitar***
x) MIF (macrophage inhibitor factor)

Extrem de mobile, macrofagele se deplasează în ţesuturi cu ajutorul vălurilor şi expansiunilor citoplasmatice care formează adevărate pseudopode. Mobilitatea spontană a macrofagului poate creşte sub acţiunea unor *factori chemotactici,* dintre care mai importanţi sunt : *factorii* C_5, unele *toxine bacteriene, proteine denaturate*.

Se cunosc şi factori care imobilizează macrofagele la locul invaziei antigenice, în special cei secretaţi de limfocitele activate şi care permit reţinerea macrofagelor la locul de conflict în reacţiile de apărare.

Fagocitoza, proprietate fundamentală a macrofagelor, este declanşată de impactul suprafeţei celulare cu un antigen de natură diferită. Prin fagocitoză sunt îndepărtate din ţesuturi o gamă foarte largă de particule ca : microorganisme, complexe imune multimoleculare, resturi organice etc. Macrofagul este considerat *gunoierul* ţesutului conjunctiv. Fagocitoza este de două feluri : *specifică* şi *nespecifică*.

Important pentru realizarea funcţiei de fagocitoză specifică este faptul că macrofagele recunosc particulele pe care urmează să le înglobeze, proces denumit şi *recunoaştere fagocitară*. Prin recunoaştere fagocitară, macrofagul diferenţiază

Scanned with OKEN Scanner

microorganismele sau resturile tisulare, de materialele endogene normale. Recunoaşterea fagocitară se realizează la două niveluri : la *nivel tisular,* cu ajutorul factorilor de recunoaştere denumiţi *opsonine,* şi la *nivel celular,* prin *receptori* de pe suprafaţa macrofagelor. Opsoninele pot fi *neimunospecifice (fibronectina)* şi *imunospecifice* (anticorpii de tipul IgG, IgM, precum şi C'_3 - cea de a treia funcţiune a complementului). Ele învelesc particulele care urmează să fie fagocitate, procesul respectiv de învelire purtând denumirea de *opsonizare.* La nivel celular se descriu trei tipuri de receptori care reunesc particulele acoperite de fibronectină, IgG, IgM şi C'_3.

Fagocitoza neimunospecifică este mediată de receptori pentru *fibronectină.* În acest caz particula endogenă alterată sau de origine exogenă este opsonizată cu molecule de fibronectină. Ca o consecinţă, apar modificări fizico-chimice în molecula de fibronectină, care astfel este recunoscută de receptorii respectivi. Interacţiunea dintre fibronectina alterată cu receptorii de pe suprafaţa macrofagului, determină ataşarea particulei la membrana macrofagului şi declanşarea fagocitozei. În ţesutul conjunctiv, fibronectina mediază fagocitarea de colagen denaturat, fibrină, fibrinogen, plachete sanguine.

Fagocitoza imunospecifică este mediată de receptori pentru IgG, IgM şi C'_3. Particulele antigenice sunt învelite pe toată suprafaţa cu opsonine de tip IgG, IgM şi C'_3, care apoi sunt recunoscute de receptorii de la suprafaţa macrofagelor. Receptorii interacţionează cu o anumită porţiune din IgG, şi anume cu *fragmentul Fc ;* de aici derivă denumirea de *receptor Fc* pentru categoria de receptori care ataşează complexele antigen-anticorp. Receptorii C'_3 recunosc şi ataşează particulele opsonizate cu IgM şi C'_3. Fagocitoza poate fi considerată răspunsul suprafeţei celulare la semnalul generat de contactul dintre particulele opsonizate cu receptorii de membrană.

Fagocitoza mediată de receptori apare numai la macrofagele tisulare denumite »*de profesie*». Ea trebuie deosebită de fagocitoza nespecifică sau nemediată de receptori, în care unele materiale inerte sau chiar bacterii pot fi înglobate în absenţa factorilor de recunoaştere. În aceste cazuri apar interacţiuni nespecifice, *electrostatice* sau *hidrofobe* între aceste particule şi suprafaţa externă a macrofagelor. Un astfel de exemplu este dat de *macrofagele alveolare care înglobează din aerul inspirat unele particule inerte,* cum ar fi : *cărbunele, siliciul* şi alţi poluanţi industriali.

Etapele fagocitozei. Particulele antigenice se ataşează de suprafaţa membranei celulare, ataşare ce poate fi ori mediată de receptori, ori consecutivă unor interacţiuni specifice. După ataşare, macrofagul trimite pseudopode care înconjoară particula. Prin unirea capetelor acestor pseudopode se formează o veziculă denumită *fagozom,* care se deplasează în citoplasmă cu ajutorul mişcărilor microfilamentelor. Fagozomul fuzionează cu *lizozomii primari,* formând lizozomi secundari de tipul *fagolizozomilor.* La nivelul acestora, particulele sunt degradate cu ajutorul *hidrolazelor acide lizozomale.* Ceea ce nu poate fi digerat, rămâne depozitat în lizozomii secundari, care capătă denumirea de *corpi denşi* şi care sunt exocitaţi.

Monocitele, respectiv macrofagele din ţesuturi, fagocitează în general particule de talie mare cum ar fi bacteriile, virusurile, complexele antigen-anticorp, corpurile străine (fier, praf) şi celule întregi (eritrocite îmbătrânite).

Macrofagele fagocitează bacteriile mai încet decât neutrofilele, dar sunt mai eficiente în distrugerea lor, folosind în principal căile metabolice dependente de oxigen (fosforilarea oxidativă). Pe măsură ce macrogaful se maturează, în citoplasmă creşte şi numărul de lizozomi ce conţin fosfataza acidă, beta-glucuronidază, lizozim, hialuronidază şi alte hidrolaze acide. Macrofagele folosesc pentru distrugerea particulelor endocitate un sistem generator de H_2O_2.

Scanned with OKEN Scanner

Activarea macrofagului este realizată prin sporirea capacităţii de ingerare a diferitelor particule din mediul extracelular şi apare sub efectul diferiţilor stimulatori ai fagocitozei. Cel mai adesea, activarea macrofagică apare în infecţii ale organismului cu diferite tipuri de microorganisme care stimulează secreţia de *limfokine* de către *limfocitul T.* Sub efectul limfokinelor, macrofagul creşte ca volum, organitele celulare devin mai abundente, în special elementele aparatului vacuolar. Suprafaţa celulară devine neregulată datorită multiplicării expansiunilor citoplasmatice şi a pseudopodelor. La suprafaţa macrofagului, numărul de receptori pentru IgG şi C'_3 creşte considerabil. Sub acţiunea limfokinelor , macrofagele activate sunt capabile să înglobeze şi să distrugă orice tip de antigen, fără recunoaştere imunologică.

Factorul MIF (macrophage inhibitor factor) secretat de limfocite determină localizarea macrofagelor la locul de invazie microbiană, inhibând deplasarea lor în alte zone, pentru a realiza o intensă fagocitoză.

Macrofagele sunt capabile *să secrete* în mediul extracelular diferite substanţe ca : fracţiuni proteice ale complementului (C'_2 şi C'_4), proteine pirogene care determină apariţia febrei, interferoni, enzime ca elastaza, colagenaza, lizozimul, activator al plasminogenului, factori care stimulează creşterea numărului de colonii hemopoetice în măduva roşie hematogenă.

Funcţiile macrofagului din ţesuturile conjunctive sunt comune cu ale celorlalte macrofage din organism, incluse într-un sistem denumit »*sistemul macrofagic monocitar*» *(SMM)*. Acest sistem grupează ansamblul macrofagelor şi al celulelor derivate din ele, care, alături de *limfocite* şi *plasmocite,* alcătuiesc *celulele sistemului imunitar.* În acest sistem se disting trei compartimente celulare : *compartimentul medular, sanguin* şi *tisular*.

Compartimentul medular cuprinde ansamblul celulelor care proliferează în măduva osoasă, plecând de la celula stem hemopoetică pluripotentă ce se diferenţiază în monocite. În acest compartiment intră *celula stem*, determinată pentru diferenţiere în această direcţie, dar încă nediferenţiată, monoblastele, promonocitele, monocitele medulare.

Compartimentul sanguin cuprinde monocitele sanguine, care reprezintă forma circulantă sau de distribuire a macrofagelor din organism.

Compartimentul tisular este reprezentat de monocitele migrate în ţesuturi şi diferenţiate în macrofagele tisulare. Aceste macrofage tisulare se grupează în două categorii : *macrofage libere* şi *macrofage fixe. Macrofagele libere* sunt diseminate în organism şi se găsesc în ţesutul conjunctiv lax (unde poartă numele de *histiocite*), în cavităţi seroase *(macrofagele pleurale* şi *peritoneale),* în alveolele pulmonare *(macrofagele alveolare)*, în organele limfo- şi hematopoetice (măduva osoasă, limfonozi, splină), în sistemul nervos central *(microglia). Macrofagele fixe* sunt imobilizate în unele organe unde îndeplinesc un rol local specific. În această categorie intră macrofagele din limfonozi, macrofagele fixe din splină, macrofagele fixe din ficat *(celulele Kupffer din sinusoidele hepatice).*

Macrofagul participă activ la curăţarea nespecifică a ţesuturilor şi la reacţiile imune.

Scanned with OKEN Scanner

Curăţarea nespecifică a ţesuturilor se realizează prin fagocitoză, toate macrofagele acţionând ca „gunoieri" ai organismului pe care îl debarasează de materiale străine (bacterii, ciuperci, paraziţi, particule inerte etc.) şi autohtone (hematii îmbătrânite, celule uzate, complexe macromoleculare de natură diferită).

În reacţiile imune rolul macrofagelor este foarte important, în special, la începutul şi sfârşitul reacţiei imune. La începutul reacţiei imune macrofagul *captează antigenul,* îl fixează pe suprafaţă şi îl lasă în contact pentru lungi perioade de timp cu limfocitele, pe care le stimulează în generarea răspunsului imun. La sfârşit, macrofagele atrase de unele substanţe secretate de limfocite în focarele invadate de antigene, le fagocitează şi le distrug.

2.2.1.10. Plasmocitul

Morfologic, se caracterizează prin forma sferică, ovală, mai rar poliedrică, nucleul excentric, heterocromatic, în care cromatina cu aspect de blocuri piramidale se dispune cu baza pe faţa internă a nucleolemei (nucleu caracteristic, »*în spiţă de roată*»). Citoplasma este bogată în ribozomi, ergastoplasmă şi coplex Golgi hipertrofiat (fig. 2.17). Reticulul endoplasmic rugos este foarte dezvoltat, cu cisterne mărginite de numeroşi ribozomi. Prezenţa reticulului rugos foarte dezvoltat face ca citoplasma să se coloreze puternic cu *pironină,* de unde şi denumirea de »*celula pironinofilă a ţesutului conjunctiv*». Pe alocuri, în cisternele reticulului rugos sunt acumulate cantităţi mari de produşi de secreţie, reprezentaţi prin proteine denaturate. Ele se colorează acidofil şi apar sub forma unor corpusculi denumiţi *corpusculi Russell.* Organizarea celulară semnifică funcţii intense de sinteză.

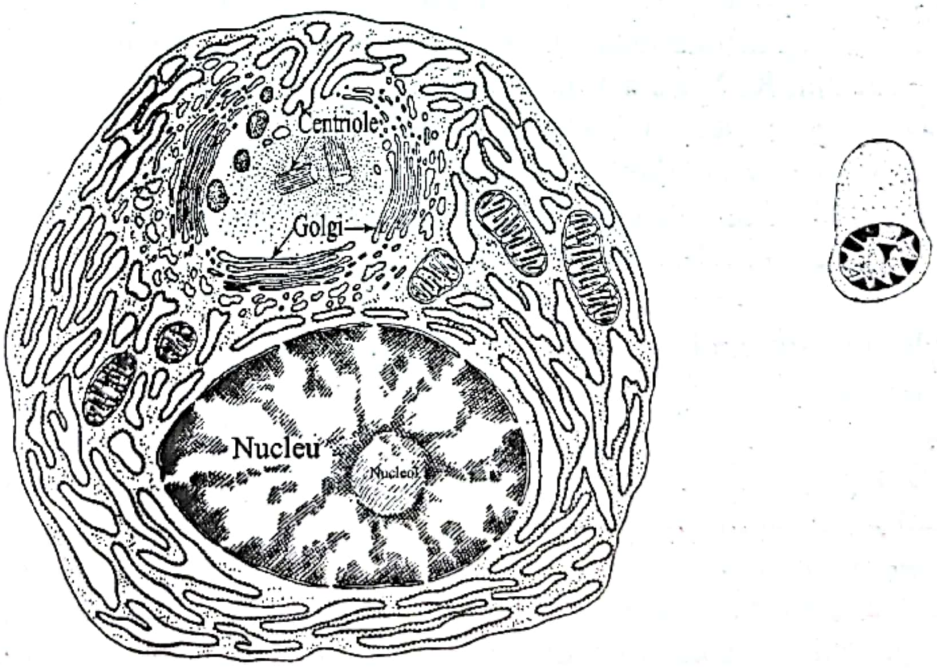


Fig. 2.17. ***Plasmocitul la MO şi ME. Reticul endoplasmic rugos bine dezvoltat, cu cisterne ce conţin imunoglobuline (anticorpi)***

Scanned with OKEN Scanner

În stări normale, numărul de plasmocite este redus, în schimb în stări patologice provocate de infecţii cronice se produce o hiperplazie. Plasmocitul este celula ţesutului conjunctiv din lamina propria mucoaselor digestive, genitale, respiratorii, din submucoase, ţesutul conjunctiv lax interstiţial, ţesutul conjunctiv periacinos şi pericanalicular din glandele salivare.

Ca origine (plasmocitele) iau naştere din *limfocitul B* după stimulare antigenică. Ele nu apar în ţesutul conjunctiv decât după naştere, când organismul ia contact cu antigenii.

Plasmocitele sunt angajate în apărare prin mecanisme umorale; ele sunt celule elaboratoare de anticorpi gamma globulinici.

Rolul plasmocitului este de a sintetiza şi secreta toate tipurile de imunoglobuline din organism. Astfel, el intervine activ în procesele imunologice ale organismului.

2.2.2. Substanţa fundamentală

În toate varietăţile de ţesuturi conjunctive, între celule şi fibre există un material amorf, omogen – *substanţa fundamentală*, cu o compoziţie chimică complexă, străbătută de vase şi nervi. La microscopul optic, substanţa fundamentală apare omogenă; la microscopul electronic, prezintă o structură fibrilară. Chimic, este un gel glicoproteic puternic hidrofil, cu o consistenţă *fluidă (sol)* sau *vâscoasă (gel)*, determinată de cantitatea de apă. Substanţa fundamentală este alcătuită din *proteine fibroase* şi *globuloase* (colagenice şi necolagenice), care, prin combinare cu polizaharidele, formează *complexe glicoproteice*. Glicoproteinele constituie o reţea cu ochiuri de mărimi variabile, în funcţie de starea fizico-chimică, ochiuri în care se dispune apa, împreună cu metaboliţi (glucoza etc.), cataboliţi (ureea etc.), electroliţi (de Na, K, Mg ş.a.), hormoni.

Originea substanţei fundamentale este dublă: *celulară* şi *vasculară*.

Componenta celulară este reprezentată de: *proteinele fibroase de tipul colagenului* şi elastinei, glicozoaminoglicanii şi glicoproteine structurate (vezi 7.3).

Glicozaminoglicanii (GAG) cunoscuţi în trecut sub denumirea de mucopolizaharide sunt complexe polizaharidice compuse din unităţi repetitive de dizaharide, în care unul din cele două reziduuri de glucid care se repetă este un *aminoglucid*, respectiv *N- acetil-glucozamina* sau *(N-acetil-galactozamina)*. Cel de al doilea glucid este un *acid uronic (glucuronic, iduronic)*.

Din grupul glicozaminoglicanilor fac parte: *acidul hialuronic* (singurul nesulfatat), *condroitin-sulfaţii*, *heparan-sulfaţii*, *keratan-sulfaţii* şi *heparina*. Cu excepţia acidului hialuronic, toţi ceilalţi glicozaminoglicanii sunt legaţi covalent de o proteină cu care formează molecule de *proteoglicani (PG)*. Circa 95 % din molecula de proteoglicani este constituită din glicozaminoglicani, iar 5 % din proteine.

Scanned with OKEN Scanner

Proteoglicanii, datorită componentei polizaharidice formează polianioni foarte mari care leagă apa şi cationii (în special Na+), alcătuind aşa-numita substanţă fundamentală. Proteoglicanii sunt foarte heterogeni în ceea ce priveşte conţinutul proteic, mărimea moleculei şi numărul de glicozaminoglicani din moleculă, dar cu o repetare regulată de dizaharide similare.

Glicoproteinele structurate joacă un rol important în funcţionarea matricei extracelulare, cum ar fi relaţiile intercelulare şi adezivitatea celulelor. Până în prezent sunt cunoscute următoarele glicoproteine : *fibronectina* (se găseşte în matricea tuturor tipurilor de ţesuturi conjunctive), *condronectina* (în matricea cartilaginoasă), *laminina* (numai în membranele bazale).

GAG şi PG se formează în fibroblaste prin mecanismul de sinteză comun glicoproteinelor. Componenta proteică se sintetizează la nivelul ribozomilor reticulului endoplasmic rugos şi glicozilarea începe în acelaşi organit (RER) fiind completă în structurile golgiene, unde se desfăşoară şi procesul lor de sulfatare. Ei sunt apoi eliminaţi în matricea extracelulară.

Componenta vasculară (lichidul tisular – derivat al plasmei sanguine şi limfatice) conţine : apă, săruri, proteine serice, metaboliţi, cataboliţi, hormoni, alte secreţii celulare. El circulă prin toate spaţiile ultrafine pericelulare şi perifibrilare. În condiţii patologice, lichidul tisular se acumulează în spaţiile de difuziune, care se lărgesc şi devin vizibile la microscopul optic *(edemul tisular)*.

Structura şi funcţiile substanţei fundamentale sunt condiţionate de gradul de poli- şi depolimerizare a acesteia. Polimerizarea imprimă substanţei fundamentale o stare vâscoasă (gel), care poate ajunge până la rigiditate ; în contrast, depolimerizarea determină o fluidifiere (stare de sol), o permeabilitate mărită, care facilitează trecerea lichidelor şi a substanţelor difuzabile. Cele două stări sunt controlate de factori enzimatici (hialuronidaza), hormonali (cortizonul, ACTH, estrogeni), acidul L-ascorbic (vitamina C).

Substanţa fundamentală reprezintă pentru celule *rezervorul de apă, proteine, electroliţi* şi *metaboliţi*. Are şi o *funcţie trofică*, constituind o componentă a mediului intern al organismului, conţinând şi difuzând la toate celulele substanţele nutritive. Prin modificări ale stării fizico-chimice (poli- şi depolimerizare), *participă la procesele de permeabilitate ;* reprezintă o *barieră* care împiedică pătrunderea microorganismelor şi a toxinelor eliberate de acestea.

Este cunoscut faptul că în toxibacteriemii, sub acţiunea hialuronidazei sintetizată de bacterii, substanţa fundamentală se depolimerizează, fiind astfel facilitată dispersia şi invazia toxinelor microbiene.

Substanţa fundamentală este condensată în jurul celulelor şi fibrelor pe care le înglobează, formând membrane cu conţinut bogat în glicoproteine, PAS-pozitive (ex. : glicolema, tecile perifibrilare, laminele bazale).

Scanned with OKEN Scanner

2.2.3. *Fibrele conjunctive*

Sunt structuri proteice asemănătoare între ele prin organizarea electronomicroscopică, chimică şi prin origine. Împreună cu substanţa fundamentală, ele formează substanţa interstiţială numai a ţesuturilor conjunctive.

Fibrele sunt produşi de sinteză ai celulelor conjunctive (mezenchimale, fibroblaşti, condroblaste, osteoblaste). Morfologia fibrelor este redată în fig. 2.18.

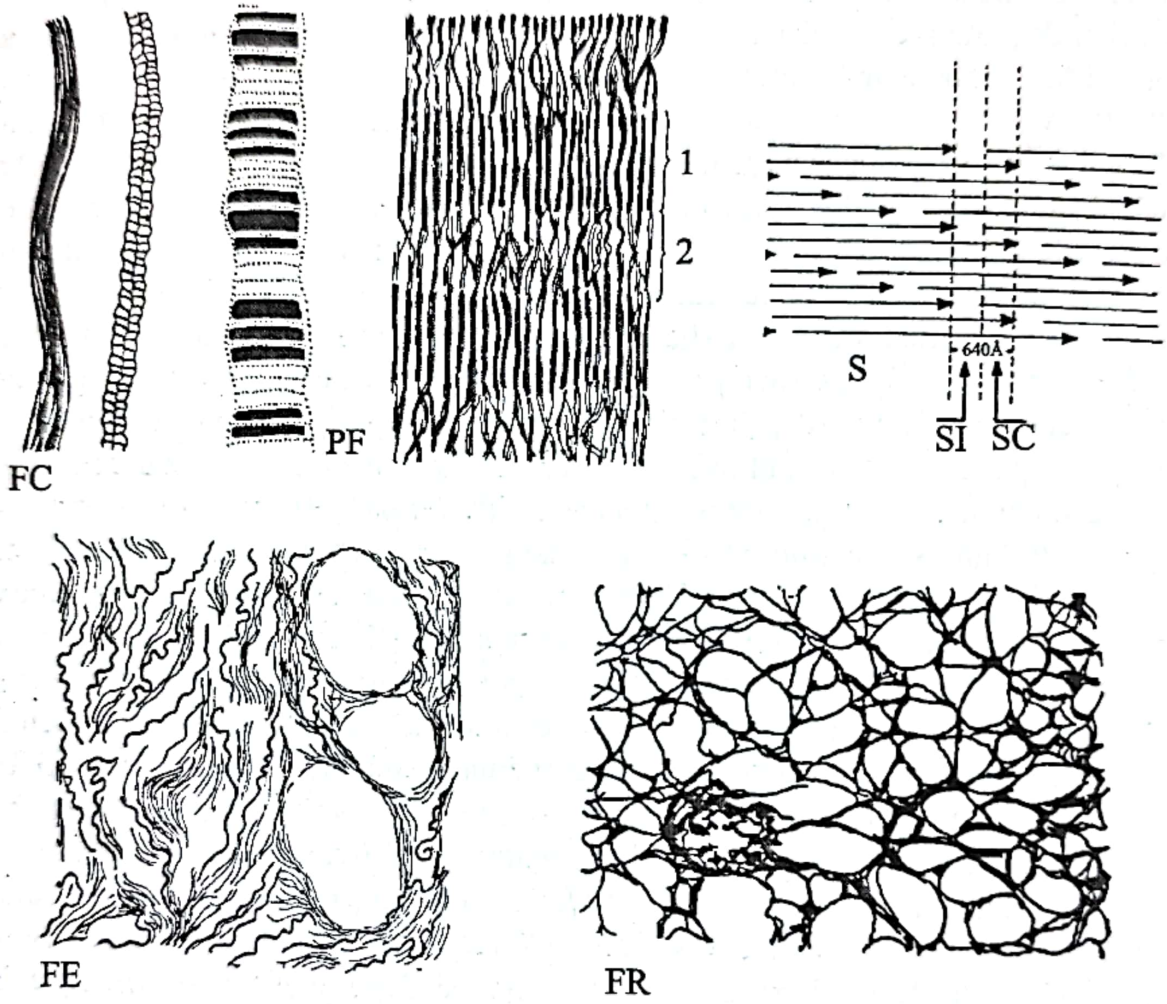


Fig. 2.18. ***Fibrele ţesutului conjunctiv*** : FC-fibre de colagen ; (PF-protofibrila de colagen cu structură periodică la ME) : 1-bandă întunecată ; 2-bandă clară ; S-dispunerea segmentelor –schemă ; SI-segment întunecat ; SC-segment clar ; FE-fibre elastice ; FR-fibre de reticulină.

Unitatea de structură a fibrelor conjunctive a fost demonstrată cu ajutorul microscopului electronic, fibrele fiind formate din subunităţi denumite *protofibrile* (vezi 7.2). Protofibrilele manifestă structuri periodice, fiind formate din alternanţe de discuri clare şi întunecate. Protofibrilele sunt diferenţiate pe categorii de fibre.

Scanned with OKEN Scanner

deosebirea fiind conferită de proteina specifică: *colagen, reticulină, elastină.* Pe lângă proteina specifică, în structura protofibrilelor intră sulf şi fosfor. În protofibrile, macromoleculele proteice, prin înlănţuire, formează filamente spiralate. Protofibrilele sunt învelite într-o peliculă subţire de glicoproteine.

Fibrele de colagen sunt formate dintr-o holoproteidă insolubilă (scleroproteină) denumită *colagen,* care prin fierbere cu apa dă gelatina, iar sub acţiunea colagenazei poate fi distrusă. Diametrul fibrei este variabil, de la 1-20 μm. Fiecare fibră este constituită dintr-un mănunchi de *fibrile,* cu diametrul de 0,2-0,5 μm fiecare, aşezate paralel între ele, numărul lor variind de la o fibră de colagen la alta. Între aceste fibrile există un ciment (substanţă de legătură), format din glicoproteine. La ME, fiecare fibrilă este alcătuită din subunităţi numite *microfibrile (protofibrile)* cu un diametru de 10-20 nm. Protofibrila este formată dintr-o alternanţă regulată de benzi clare şi întunecate, constituindu-se o periodicitate de 640 Å. Benzile clare au un conţinut mai ridicat de apă în timp ce benzile întunecate, conţin proteine în cantitate mai mare. La nivelul macromolecular, *fiecare protofibrilă* este formată prin aranjarea moleculelor de colagen cu periodicitatea de 64 nm.

Colagenul se sintetizează în fibroblaste prin mecanisme similare altor proteine, adică la nivelul ribozomilor reticulului endoplasmic granular. Fiind o moleculă mare, sinteza colagenului are loc în poliribozomi, fiind necesari aproximativ *100 ribozomi* pentru formarea unei singure molecule. La acest nivel se sintetizează *tropocolagenul* care este o moleculă proteică foarte solubilă cu un diametru de 1,5 nm şi cu o lungime de aproximativ 280-300 nm. Moleculele de tropocolagen se unesc prin capetele lor şi fiecare moleculă este formată din trei lanţuri polipeptidice ce se răsucesc între ele elicoidal ca fibrele într-o frânghie. Urmează segregarea şi concentrarea în aparatul Golgi a materialului sintetizat, care este eliberat din celulă prin dezintegrări ale fibroblastului în dreptul zonei de condensare a microfibrilelor de tropocolagen. În mediul extracelular are loc polimerizarea moleculelor de tropocolagen în molecule de colagen insolubile care vor forma *fibra de colagen.*

Fibrele de reticulină sunt formate dintr-o holoproteidă numită *reticulina* care este distrusă de *reticulază.* Ele sunt subţiri cu un diametru de 0,2-2 μm şi monofibrilare. Se găsesc în proporţie mare în organele hematopoetice, unde constituie reticulul de susţinere, în laminele bazale, în glandele endocrine şi în ficat. Ele se evidenţiază prin tehnica impregnărilor argentice în brun-închis, deoarece au proprietatea de a reduce sărurile de argint, deci sunt *argirofile.* La ME s-a stabilit prezenţa aceleaşi periodicităţi caracteristice de 640 Å întâlnită la fibrele de colagen şi de aceea, au fost omologate cu fibre de colagen foarte tinere, fiind generate de fibroblaşti.

Fibrele elastice sunt formate dintr-o holoproteidă insolubilă, *elastina,* care este distrusă de *elastază.* Au diametrul de 1 μm, sunt monofibrilare şi se structurează în două moduri: *reţele cu ochiuri mari neregulate* (în pulmon, cartilajele elastice) şi în *lamele elastice* (tunica medie a aortei, ligamentul cervical la taurine şi ecvine). Ele iau naştere în fibroblaşti şi în mioblaşti, care generează proelastina şi care se

Scanned with OKEN Scanner

organizează extracelular sub forma unor fibre lungi (*fibre elastice*). Acestea se evidenţiază cu orceină în roşu-brun, cu rezorcină fuxină (Weigert) în roşu aprins, cu aldehid-fuxină (Gömöri) în negru, cu hematoxilină ferică , metoda Verhoeff în negru-albastru.

Au o elasticitate deosebită şi pot suporta o tracţiune până la 20 kg/cm. Datorită elasticităţii lor, atunci când se rup, se răsucesc în spirală formând *cârligul lui Bischoff*. La ME fibrele elastice apar omogene, deoarece la nivelul protofibrilelor din care sunt constituite nu a fost observată periodicitatea întâlnită la fibrele de colagen şi de reticulină.

2.3. Celula endotelială, capilarele

Capilarul reprezintă o diferenţiere a ţesutului conjunctiv, în structura lui se întâlnesc cele trei elemente caracteristice: *celule (endoteliul), fibre* şi *substanţă fundamentală*. Capilarele sanguine se clasifică în două categorii: *tipice* şi *atipice* (cu *endoteliu fenestrat*, *sinusoide*, *de tip embrionar* şi *de neoformaţie*).

Histogeneza: Capilarele sanguine iau naştere din proliferarea celulelor mezenchimale din peretele veziculei viteline, care vor structura aglomerări celulare cunoscute sub denumirea de *insulele Wolff* şi *Pander* (fig. 2.19).

Începutul diferenţierii endoteliilor vaselor

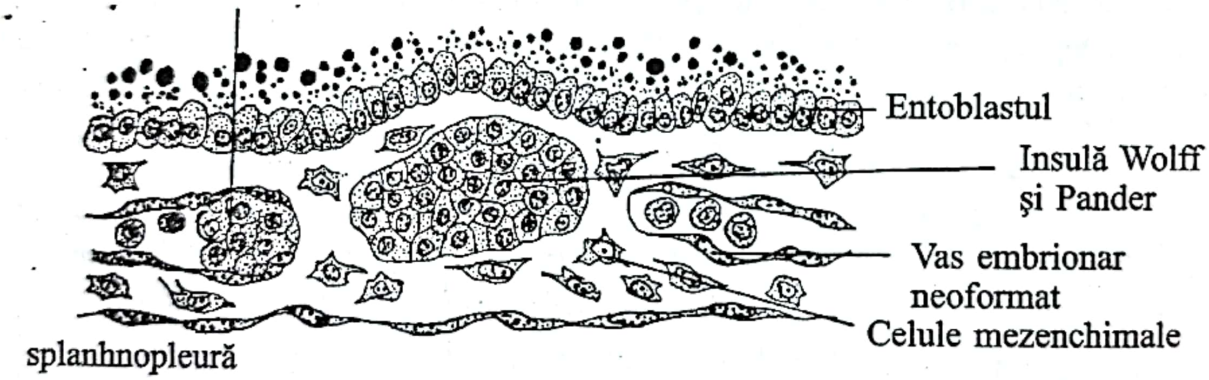


Fig. 2.19. ***Histogeneza capilarelor sanguine***

Materialul celular al acestor insule se va diferenţia pe două căi diferite. Celulele localizate la periferia germenilor vasculo-sanguini se aplatizează, devin endoteliforme *(angioblaste)* şi formează *celulele endoteliale*, iar cele din centrul insulelor se diferenţiază în *celule stem* care reprezintă capul de serie al primelor elemente figurate ale sângelui embrionar. Capilarele sanguine se pot forma şi în organismul adult şi asemenea capilare se numesc de *neoformaţie*. Acestea iau naştere prin diferenţierea celulelor mezenchimale în angioblaste, care vor structura noile capilare.

Scanned with OKEN Scanner

Aşezate pe un singur rând, *celulele endoteliale* delimitează lumenul vaselor sanguine şi limfatice. Ele prezintă polaritate funcţională şi poziţională, având o *faţă luminală* scăldată de sângele circulant, *una tisulară* scăldată de fluidul tisular şi *două feţe laterale* prin care vin în contact unele cu altele.

Capilarele tipice sunt vase de calibru mic, cu lumen regulat şi cu endoteliu continuu. Diametrul lor este de 10-30 μm, deci sunt vizibile numai la microscop, uneori calibrul lor este de 5-6 μm, întâlnindu-se în lumenul lor rare hematii deformate şi plasmă sanguină. Peretele lor este format din următoarele elemente : *endoteliu, lamina bazală* şi *patul conjunctiv* în care se remarcă celulele adventiţiale sau *pericitele (celulele Rouget)* (fig. 2.20).

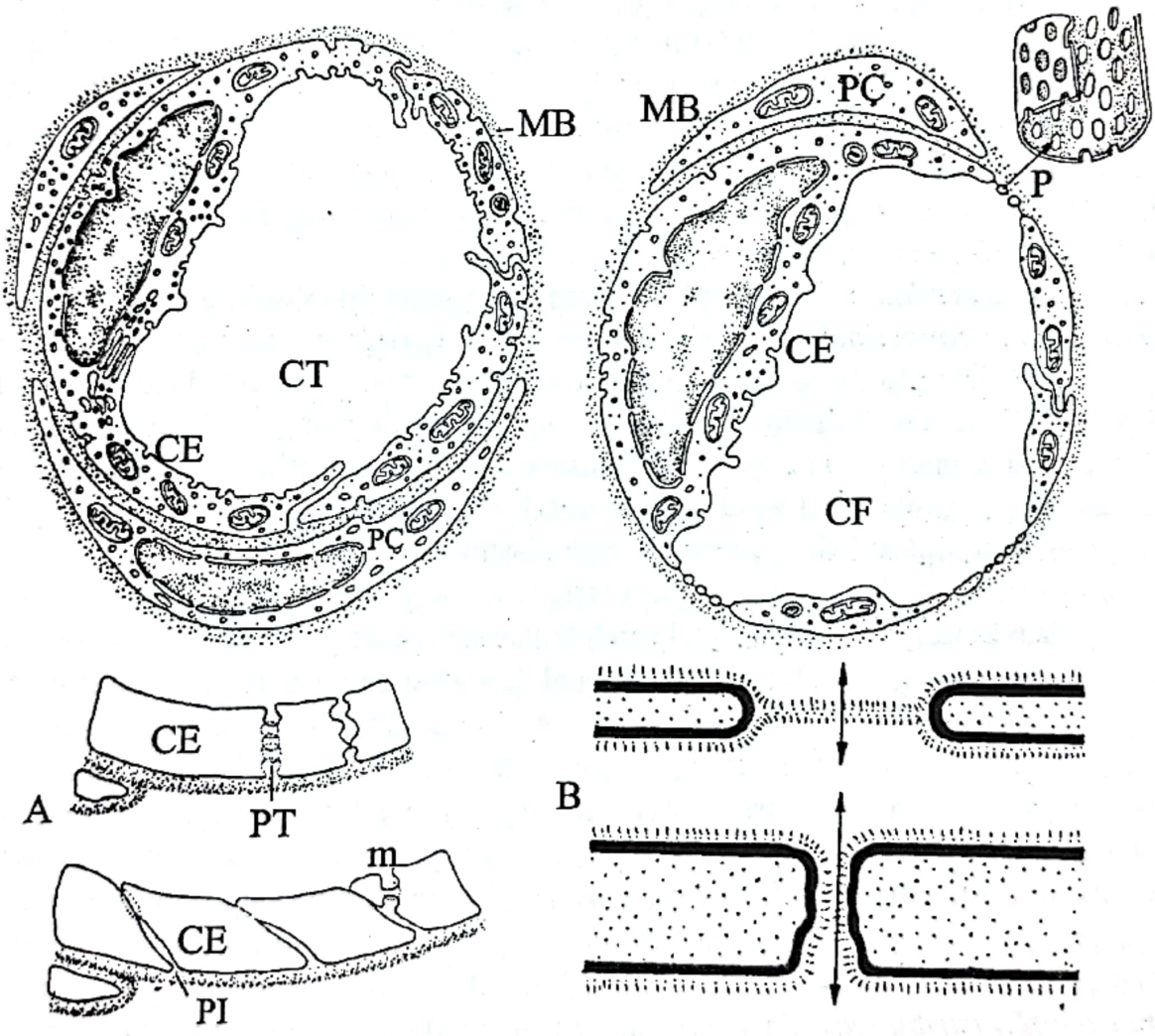


Fig. 2.20. ***Capilarele*** : CT-capilarul tipic ; CF-capilar de tip fenestrat ; P-por ; CE-celulă endotelială ; MB-membrană bazală ; PC-pericit ; A-Schema pasajului transendotelial şi intercelular ; PT-pasaj transendotelial ; PI-pasaj interendotelial ; m-micropinocitoză. B - Schema structurilor trilaminate la nivelul porilor din capilarele fenestrate.

Scanned with OKEN Scanner

Celula endotelială are formă poliedrică, diametrul de 25-40 μm şi grosimea de 2-3 μm în zona localizării nucleului şi de 0,1-0,3 μm în părţile laterale ale celulei. Nucleul este alungit, orientat paralel cu axul lung al vasului. Membrana celulară prezintă particularităţi în funcţie de polaritatea poziţională a celulei. Pe faţa luminală, scăldată de plasmă, membrana prezintă o *glicolemă* groasă de 15-40 nm. La nivelul ei s-a pus în evidenţă o gamă largă de molecule ca : glicozaminoglicani, glicoproteine, glicolipide şi sialoconjugaţi. În această zonă membrana este acoperită, pe frontul luminal, de o peliculă formată din proteine plasmatice adsorbite la suprafaţă din sângele circulant. Dintre acestea fac parte : *alfa-2-macroglobulina*, un inhibitor protează, *lipaza, heparina, fibrinogenul, albumina*. Datorită încărcăturii negative a membranei şi structurii ei moleculare specifice, celulele endoteliale sunt netrombogene, împiedicând aderarea trombocitelor sau a celulelor sanguine la suprafaţa luminală. Ea prezintă receptori specifici care reţin o serie de molecule ce urmează să fie ori metabolizate de către celulele endoteliale, ori transportate spre frontul tisular. Dintre acestea fac parte *lipoproteinele cu densitate mică (LDL – Low Density Lipoproteins), angiotensina, insulina, serotonina, epinefrina* şi *norepinefrina, acetilcolina, histamina, trombina*.

Celula endotelială participă la sinteza colagenului tip IV şi V, *glicoproteinelor, lamininei, fibronectinei, entactinei*, care intră în organizarea laminei bazale. Membranele laterale ale celulei endoteliale stabilesc contacte cu cele învecinate prin dispozitive joncţionale de *tip occludens* şi *Gap*. În vasele mari, pe lângă acestea, se găsesc şi joncţiuni de *tip desmozomal*. *Matricea celulară* conţine organite comune, concentrate perinuclear (regiunea organitelor). Acestea sunt reprezentate prin mitocondrii, complexul Golgi, reticulul endoplasmic bine dezvoltat, lizozomii primari şi secundari, corpi denşi şi multiveziculari.

Sub aspect *funcţional* celulele endoteliale sunt puternic diferenţiate, în vederea efectuării procesului de schimb bidirecţional de substanţe între două compartimente fluide reprezentate de *plasmă* şi *lichidul interstiţial*. Schimburile de substanţe între cele două medii au loc, în principal, prin procesele de *endocitoză* şi *exocitoză*. Endocitoza se efectuează fie prin *fagocitoză*, fie prin *pinocitoză*. *Transcitoza* reprezintă o varietate de endocitoză cuplată cu exocitoza, prin care molecule de natură foarte diferită sunt preluate pe o faţă a membranei şi eliminate pe faţa opusă. Procesul presupune înglobarea unor molecule mici, prin pinocitoză în faza fluidă, în mici vezicule care, fie traversează celula şi se deschid pe frontul interstiţial sau sanguin (*transcitoză distributivă*), fie fuzionează organizând canale care permit transportul rapid de particule de pe o faţă pe alta (*transcitoză conectivă*). Transcitoza poate fi principala activitate a celulelor endoteliale din capilare şi venule postcapilare, în timp ce celelalte forme de endocitoză sunt mai bine reprezentate în celulele endoteliale din sinusoide. O altă funcţie a celulelor endoteliale este aceea de a sintetiza steroli, din care o parte sunt distribuiţi propriei plasmaleme.

Scanned with OKEN Scanner

Celula endotelială are formă poliedrică, diametrul de 25-40 μm şi grosimea de 2-3 μm în zona localizării nucleului şi de 0,1-0,3 μm în părţile laterale ale celulei. Nucleul este alungit, orientat paralel cu axul lung al vasului. Membrana celulară prezintă particularităţi în funcţie de polaritatea poziţională a celulei. Pe faţa luminală, scăldată de plasmă, membrana prezintă o *glicolemă* groasă de 15-40 nm. La nivelul ei s-a pus în evidenţă o gamă largă de molecule ca : glicozaminoglicani, glicoproteine, glicolipide şi sialoconjugaţi. În această zonă membrana este acoperită, pe frontul luminal, de o peliculă formată din proteine plasmatice adsorbite la suprafaţă din sângele circulant. Dintre acestea fac parte : *alfa-2-macroglobulina*, un inhibitor proteazic, *lipaza, heparina, fibrinogenul, albumina*. Datorită încărcăturii negative a membranei şi structurii ei moleculare specifice, celulele endoteliale sunt netrombogene, împiedicând aderarea trombocitelor sau a celulelor sanguine la suprafaţa luminală. Ea prezintă receptori specifici care reţin o serie de molecule ce urmează să fie ori metabolizate de către celulele endoteliale, ori transportate spre frontul tisular. Dintre acestea fac parte *lipoproteinele cu densitate mică (LDL – Low Density Lipoproteins), angiotensina, insulina, serotonina, epinefrina* şi *norepinefrina, acetilcolina, histamina, trombina*.

Celula endotelială participă la sinteza colagenului tip IV şi V, *glicoproteinelor*, *lamininei*, *fibronectinei*, *entactinei*, care intră în organizarea laminei bazale. Membranele laterale ale celulei endoteliale stabilesc contacte cu cele învecinate prin dispozitive joncţionale de *tip occludens* şi *Gap*. În vasele mari, pe lângă acestea, se găsesc şi joncţiuni de *tip desmozomal*. *Matricea celulară* conţine organite comune, concentrate perinuclear (regiunea organitelor). Acestea sunt reprezentate prin mitocondrii, complexul Golgi, reticulul endoplasmic bine dezvoltat, lizozomii primari şi secundari, corpi denşi şi multiveziculari.

Sub aspect *funcţional* celulele endoteliale sunt puternic diferenţiate, în vederea efectuării procesului de schimb bidirecţional de substanţe între două compartimente fluide reprezentate de *plasmă* şi *lichidul interstiţial*. Schimburile de substanţe între cele două medii au loc, în principal, prin procesele de *endocitoză* şi *exocitoză*. Endocitoza se efectuează fie prin *fagocitoză*, fie prin *pinocitoză*. *Transcitoza* reprezintă o varietate de endocitoză cuplată cu exocitoza, prin care molecule de natură foarte diferită sunt preluate pe o faţă a membranei şi eliminate pe faţa opusă. Procesul presupune înglobarea unor molecule mici, prin pinocitoză în faza fluidă, în mici vezicule care, fie traversează celula şi se deschid pe frontul interstiţial sau sanguin (*transcitoză distributivă*), fie fuzionează organizând canale care permit transportul rapid de particule de pe o faţă pe alta (*transcitoză conectivă*). Transcitoza poate fi principala activitate a celulelor endoteliale din capilare şi venule postcapilare, în timp ce celelalte forme de endocitoză sunt mai bine reprezentate în celulele endoteliale din sinusoide. O altă funcţie a celulelor endoteliale este aceea de a sintetiza steroli, din care o parte sunt distribuiţi propriei plasmaleme.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele endoteliale *se contractă*. Această funcţie se datorează existenţei în citoplasma lor a unui număr apreciabil de microfilamente de actină şi miozină. Modificările continui prin contracţia celulelor endoteliale sunt destinate reglării lumenului vasului, asigurând o dinamică circulatorie normală.

Se mai observă mici vezicule singulare sau dispuse în lanţuri, care pot forma, prin fuziune, *canale transendoteliale* (Simionescu N. şi colab., 1985). La locul de fuziune a acestor vezicule, pot fi observate structuri de 20-40 nm, acoperite de diafragme. Ele reprezentă căi hidrofile active, care pot funcţiona ca pori mici sau mari, cu dinamica reglată de stricturile şi diafragmele lor.

Lamina bazală este de aproximativ 1 μm, grosimea ei variind după localizarea şi funcţia capilarului. Similară membranelor bazale, ea este formată la interior dintr-o substanţă omogenă care se contopeşte cu substanţa fundamentală subendotelială şi extern dintr-un sistem reticular tridimensional de fibre argentafine, suportul de inserţie al celulelor adventiţiale *(pericite)*.

Pericitele sunt celule mari cu un diametru de 15-20 μm, orientate cu axul mare paralel cu cel al capilarului. Numărul pericitelor este variabil în funcţie de tipul de capilare şi sunt aşezate discontinuu în lungul vasului. În prezent această celulă este considerată ca un principal reprezentant al mezenchimului activ, participând la reacţiile parafiziologice şi patologice ale organismului.

Capilarele de tip fenestrat sunt capilare atipice şi prezintă un endoteliu subţire perforat de numeroase orificii cu diametrul de 70 nm. Acestea sunt mai numeroase către periferia celulei, fiind complet deschise, sau pot fi acoperite de o peliculă fină formată din stratul extern osmiofil al membranei celulare. Acest tip de capilare este prezent în ţesuturile şi organele în care au loc schimburi rapide de lichide şi metaboliţi (glandele endocrine) şi în organele în care are loc un proces activ de resorbţie (rinichi, intestin, plexurile choroide).

Capilarele sinusoide au calibrul neregulat şi se caracterizează prin faptul că între celulele endoteliale rămân spaţii largi, lipsind joncţiunile strânse interendoteliale caracteristice capilarului tipic. Acestea se evidenţiază în ficat şi în organele hematopoetice, în care prin spaţiile respective se fac treceri de particule mari sau de celule.

Capilarele embrionare se caracterizează prin faptul că la acestea nu se remarcă limitele celulelor endoteliale, ele întâlnindu-se la embrion.

Capilarele de neoformaţie iau naştere în procesele de regenerare a unor organe şi sunt constituite dintr-un rând de celule endoteliale, fără lamina bazală, care este în formare.

Capilarele limfatice sunt vase de calibru microscopic în care circulă limfa. Ele sunt formate din : *endoteliu continuu, lamină bazală* şi *patul conjunctiv* foarte delicat. Limitele dintre celulele endoteliale sunt sinuoase, cu suprapuneri de prelungiri ale celulelor endoteliale, dând aspectul de *frunză de stejar*. Citoplasma lor conţine numeroase vezicule pinocitate. Diametrul capilarelor limfatice este mai mare decât al capilarelor sanguine. Membrana bazală este neregulată ca grosime, iar la nivelul capilarului limfatic *lipsesc pericitele.*

Scanned with OKEN Scanner

Celulele endoteliale *se contractă*. Această funcţie se datorează existenţei în citoplasma lor a unui număr apreciabil de microfilamente de actină şi miozină. Modificările continui prin contracţia celulelor endoteliale sunt destinate reglării lumenului vasului, asigurând o dinamică circulatorie normală.

Se mai observă mici vezicule singulare sau dispuse în lanţuri, care pot forma, prin fuziune, *canale transendoteliale* (Simionescu N. şi colab., 1985). La locul de fuziune a acestor vezicule, pot fi observate structuri de 20-40 nm, acoperite de diafragme. Ele reprezentă căi hidrofile active, care pot funcţiona ca pori mici sau mari, cu dinamica reglată de stricturile şi diafragmele lor.

Lamina bazală este de aproximativ 1 μm, grosimea ei variind după localizarea şi funcţia capilarului. Similară membranelor bazale, ea este formată la interior dintr-o substanţă omogenă care se contopeşte cu substanţa fundamentală subendotelială şi extern dintr-un sistem reticular tridimensional de fibre argentafine, suportul de inserţie al celulelor adventiţiale *(pericite)*.

Pericitele sunt celule mari cu un diametru de 15-20 μm, orientate cu axul mare paralel cu cel al capilarului. Numărul pericitelor este variabil în funcţie de tipul de capilare şi sunt aşezate discontinuu în lungul vasului. În prezent această celulă este considerată ca un principal reprezentant al mezenchimului activ, participând la reacţiile parafiziologice şi patologice ale organismului.

Capilarele de tip fenestrat sunt capilare atipice şi prezintă un endoteliu subţire perforat de numeroase orificii cu diametrul de 70 nm. Acestea sunt mai numeroase către periferia celulei, fiind complet deschise, sau pot fi acoperite de o peliculă fină formată din stratul extern osmiofil al membranei celulare. Acest tip de capilare este prezent în ţesuturile şi organele în care au loc schimburi rapide de lichide şi metaboliţi (glandele endocrine) şi în organele în care are loc un proces activ de resorbţie (rinichi, intestin, plexurile choroide).

Capilarele sinusoide au calibrul neregulat şi se caracterizează prin faptul că între celulele endoteliale rămân spaţii largi, lipsind joncţiunile strânse interendoteliale caracteristice capilarului tipic. Acestea se evidenţiază în ficat şi în organele hematopoetice, în care prin spaţiile respective se fac treceri de particule mari sau de celule.

Capilarele embrionare se caracterizează prin faptul că la acestea nu se remarcă limitele celulelor endoteliale, ele întâlnindu-se la embrion.

Capilarele de neoformaţie iau naştere în procesele de regenerare a unor organe şi sunt constituite dintr-un rând de celule endoteliale, fără lamina bazală, care este în formare.

Capilarele limfatice sunt vase de calibru microscopic în care circulă limfa. Ele sunt formate din : *endoteliu continuu, lamină bazală* şi *patul conjunctiv* foarte delicat. Limitele dintre celulele endoteliale sunt sinuoase, cu suprapuneri de prelungiri ale celulelor endoteliale, dând aspectul de *frunză de stejar*. Citoplasma lor conţine numeroase vezicule pinocitate. Diametrul capilarelor limfatice este mai mare decât al capilarelor sanguine. Membrana bazală este neregulată ca grosime, iar la nivelul capilarului limfatic *lipsesc pericitele.*

Scanned with OKEN Scanner

Capilarele sanguine se interpun între o *arteriolă precapilară* şi o *prevenulă*. Sunt situaţii când capilarele sunt interpuse între două vase de acelaşi tip, cu structură şi funcţie asemănătoare. Astfel, la nivelul corpusculului Malpighi din rinichi, capilarele fac legătura între *două arteriole (aferentă* şi *eferentă),* alcătuind o *reţea admirabilă*. În lobulul hepatic şi la nivelul adenohipofizei, reţeaua de capilare sinusoide este interpusă între două venule, realizând *sistemul port*.

Schimburile dintre sânge şi ţesuturi sunt asigurate de permeabilitatea peretelui endotelial, care este deosebit de activă. Trecerea se face prin celula endotelială, prin joncţiunile interendoteliale, orificiile capilarelor de tip fenestrat şi spaţiile dintre celulele endoteliale de la capilarele de tip sinusoid.

Pasajul transendotelial se realizează prin trei mecanisme : a) difuziune sau filtrare pentru moleculele mici de apă şi gaze ; b) transferul prin microvezicule (pinocitoză) ; o parte din aceste microvezicule sunt reţinute de celulă, care va folosi materialul pentru activităţile metabolice proprii, iar celelalte microvezicule străbat citoplasma, fără a fi reţinute şi trec mai departe în spaţiul extracelular, realizând trecerea *(transcitoza distributivă) ;* c) deschiderea unei microvezicule în alta, în şirag şi a ultimei spre lamina bazală, cu formarea unui canal (*transcitoza conectivă*).

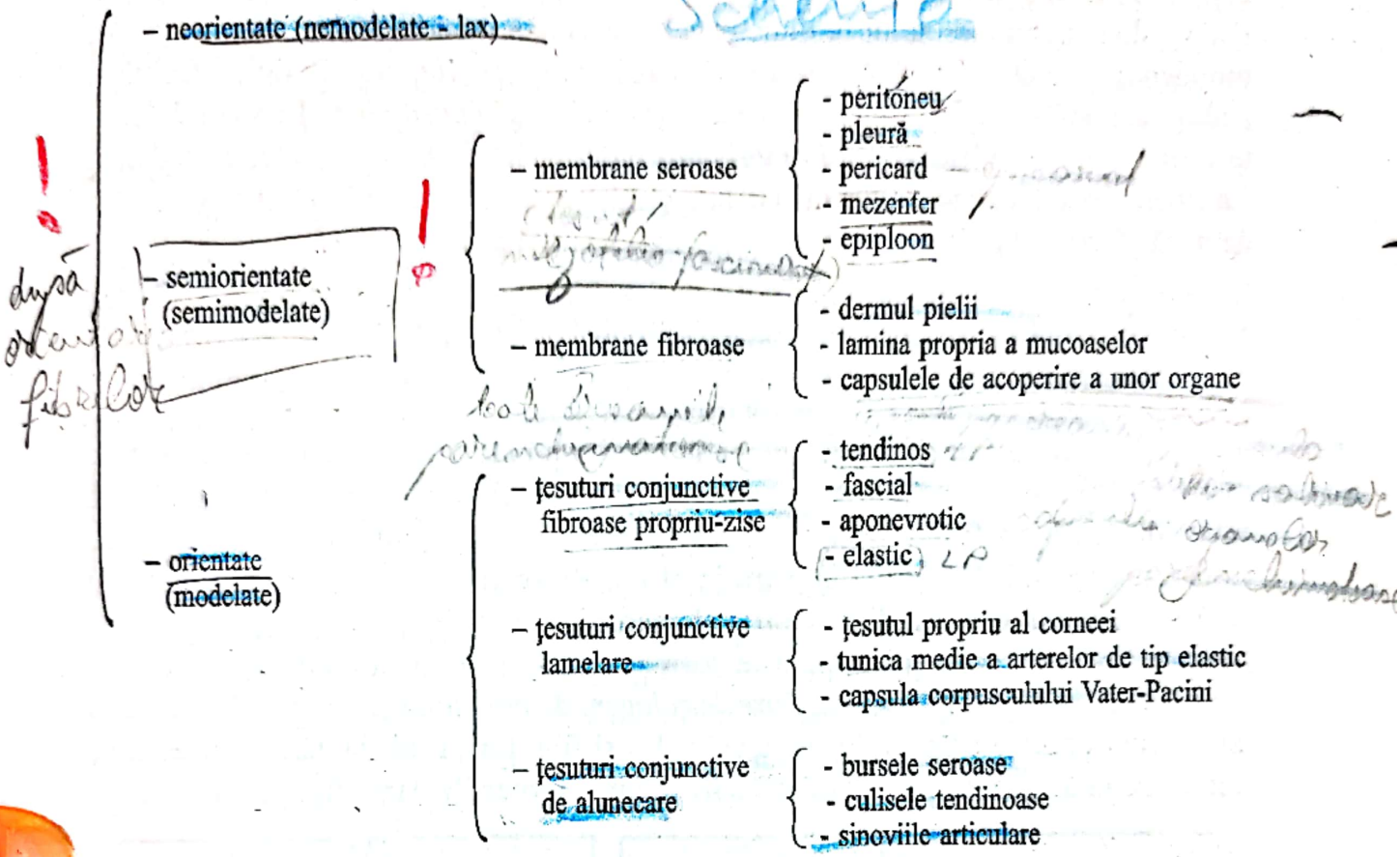
Pasajul intercelular de la nivelul joncţiunilor dintre celulele endoteliale se efectuează în mai multe moduri : a) zonula occludens dinspre lumen, funcţionează ca „o uşă" ce se deschide sau se închide la nevoie pentru realizarea trecerii substanţelor ; b) trecerea se face într-o primă fază printr-un proces de filtrare prin citoplasma endotelială, apoi substanţele sunt îndreptate către zonula adherens şi, prin aceasta, la membrana bazală ; c) microveziculele pinocitate trec din celula endotelială prin zonula adherens în spaţiul dintre celula endotelială şi lamina bazală.

2.4. Clasificarea ţesuturilor conjunctive propriu-zise

Un prim criteriu după care se pot clasifica ţesuturile conjunctive propriu-zise este în funcţie de predominanţa unora din cele trei elemente structurale ale lor :

- Fără predominanţa unor elemente : — lax
- Cu predominanţa unor elemente :
  - celule
    - mezenchimal
    - reticular
    - corion citogen
    - adipos
    - pigmentar
  - fibre
    - tendinos
    - fascial
    - aponevrotic
    - elastic
  - substanţă fundamentală — mucos

Ţesuturile conjunctive pot fi clasificate şi după modul în care fibrele conjunctive din structura lor se orientează sub influenţa presiunilor diferite ce se exercită asupra lor.



2.4.1. Ţesuturile conjunctive embrionare (de tranziţie)

2.4.1.1. Ţesutul mezenchimal

În perioada embrio-fetală este cel mai răspândit ţesut al organismului, constituit din celule mezenchimale şi substanţă fundamentală. În dezvoltarea embrionară, în structura acestui ţesut *predomină celulele*; *substanţa fundamentală la început redusă*, devine mai abundentă în perioadele ontogenice următoare. Substanţa fundamentală puternic hidratată, amorfă şi gelatinoasă, umple ochiurile reţelei formate de prelungirile celulelor.

Celulele mezenchimale, morfologic, exprimă caractere de *blaşti*, ceea ce explică numeroasele *potenţialităţi*. Celula mezenchimală este elementul de origine pentru toate celulele conjunctive existente în perioada postnatală (sau post-eclozională).

Componentele ţesutului mezenchimal, pe măsură ce organismul evoluează, suferă modificări sub acţiunea morfogenetică a diferitor factori, determinând apariţia a numeroase varietăţi de ţesuturi conjunctive care se găsesc în organism în perioada postnatală.

Scanned with OKEN Scanner

Funcţiile ţesutului conjunctiv mezenchimal sunt determinate de componentele constitutive : de susţinere, citogeneză, fibrilogeneză, de apărare, metaplazie.

2.4.1.2. Ţesutul conjunctiv gelatinos (mucos - „gelatina Wharton")

În structura ţesutului conjunctiv gelatinos predomină *substanţa fundamentală*, omogenă, bogată în mucină, care înglobează *puţine celule* cu prelungiri. Celulele elaborează substanţele caracteristice *„gelatinei" – glicoproteine*. În stadiul fetal, ţesutul este întâlnit în *cordonul ombilical,* înglobând vasele ombilicale, şi în derm. La tineret este localizat în derm, iar la organismele adulte este întâlnit în cavitatea dentară, formând *pulpa dintelui*, bogat vascularizată şi inervată.

2.4.2. Ţesuturile conjunctive adulte (propriu-zise)

2.4.2.1. Ţesutul conjunctiv lax

Este varietatea de ţesut conjunctiv răspândit în tot organismul : în interstiţiile dintre ţesuturi şi organe ; însoţeşte trunchiurile vasculare şi nervoase ; în regiunea subepidermică ; pătrunde în intimitatea organelor şi chiar între celulele acestora. Constituie ţesutul de susţinere şi trofic al epiteliilor organelor. Este *neorientat* şi *fără predominanţa* unuia din cele trei elemente structurale.

Ţesutul conjunctiv lax este format din *substanţă fundamentală, celule „autohtone" (proprii)* şi *alogene, fibre de colagen, de reticulină* şi *elastice*. Denumirea derivă de la dispoziţia neordonată a celulelor şi fibrelor în substanţa fundamentală, relativ bogată, care umple spaţiile intercelulare şi interfibrilare (fig. 2.21).

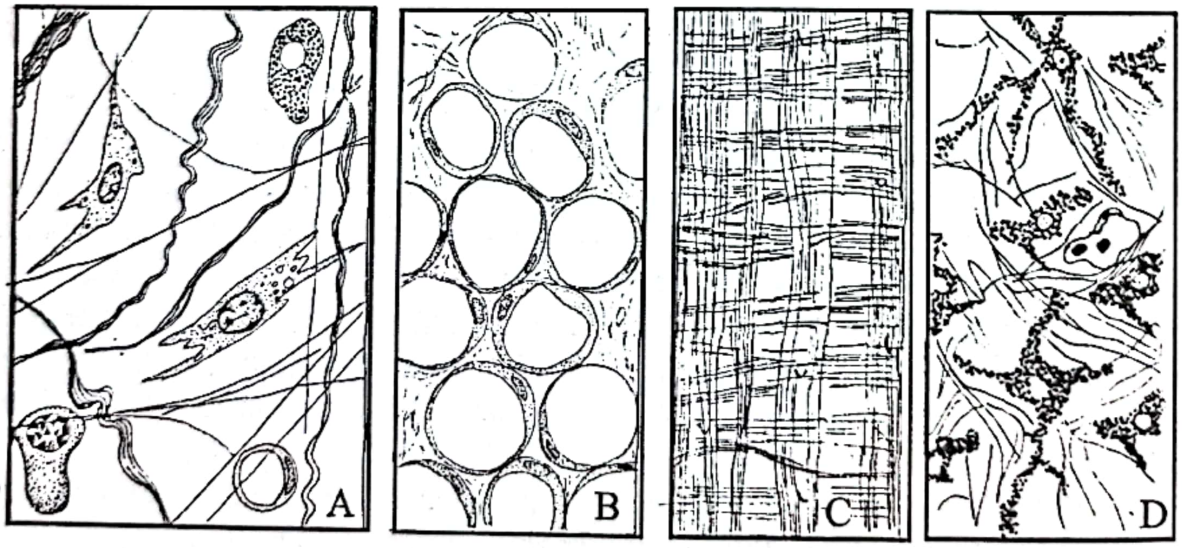


Fig. 2.21. ***Ţesuturi conjunctive propriu-zise*** ; A-lax ; B-adipos ; C-aponevrotic ; D-pigmentar.

Populaţia celulară, heterogenă şi polimorfă, în majoritate, este diferenţiată. În număr restrâns, există însă şi celule (mezenchimale, reticulare) nediferenţiate sau

Scanned with OKEN Scanner

pe cale de diferenţiere. ţesutul conjunctiv lax poate fi studiat pe secţiuni prin organe parenchimatoase, sau în ţesutul conjunctiv subcutanat, obţinut prin metoda clasică a *bulei de edem a lui Ranvier.* Această metodă constă în injectarea de ser fiziologic sau soluţii colorante (Giemsa) în ţesutul conjunctiv lax hipodermic de la o piele proaspăt jupuită de la un animal de laborator. În acest mod se obţine o veziculă cunoscută sub denumirea de bulă de edem a lui Ranvier. Din această veziculă se ia un fragment foarte mic (1-2 mm), se etalează şi se disociază pe lamă, se fixează în alcool şi se colorează cu diferite metode de colorare menţionate la celulele autohtone ale ţesutului conjunctiv propriu-zis.

Prin cele trei componente (celule, fibre, substanţă fundamentală), ca şi prin vasta repartiţie, ţesutul conjunctiv lax îndeplineşte numeroase funcţii: *mecanică* (leagă, separă, solidarizează celelalte componente ale ţesuturilor şi organelor, suport pentru alte ţesuturi); *trofică:* substanţa fundamentală este sediul unor importante schimburi între capilare, alte structuri celulare şi tisulare; *de apărare* (celule autohtone şi alogene), prin mecanisme celulare şi umorale; *de sinteză* şi *elaborare* (fibrilogeneză, elaborarea substanţei fundamentale); *regenerativă:* prin polimerizarea şi condensarea fibrelor în limitarea infecţiilor, localizarea şi vindecarea rănilor etc. Morfofiziologia ţesutului conjunctiv lax este dependentă de numeroşi factori exo- şi endogeni. Astfel, în avitaminoza „C", fibroblastul îşi pierde capacitatea de a elabora colagen, deoarece vitamina este cofermentul hidrolizării prolinei în hidroxiprolină. În ţesutul conjunctiv din organismele îmbătrânite survin modificări importante provocate de alterarea stării fizico-chimice a substanţei fundamentale, regresia celulelor şi înmulţirea fibrelor.

2.4.2.2. Ţesutul conjunctiv reticular

Este constituit din *fibre de reticulină, celule reticulare* şi *substanţă fundamentală.* Fibrele, prin contiguitate, formează o reţea cu ochiuri de diferite mărimi. Celulele reticulare, numeroase la embrion şi făt, iau naştere din celulele mezenchimale. Există două forme funcţionale ale celulei reticulare: *celula reticulară nediferenţiată,* asemănătoare celei mezenchimale şi păstrând potenţialităţile acesteia; *celula reticulară endotelială,* situată pe marginea capilarelor, aplatizată. Prin funcţia fagică, celulele sunt integrate în S.M.M. Celulele sunt separate de fibre prin substanţă fundamentală.

Elementele ţesutului reticular sunt organizate în *fibroreticul* şi *citoreticul.* Fibroreticulul este reţeaua de fibre de reticulină care formează două feluri de ochiuri: mici, căptuşite cu celule reticulare – *reticulocite* şi mari, căptuşite cu celule reticulare turtite – *retotelii.*

Ţesutul reticular este un ţesut predominant celular, formează stroma organelor hematopoetice (măduva osoasă hematogenă, splina, timusul, amigdala, plăcile Peyer, limfonod, bursa lui Fabricius – la pasăre) şi stroma unor glande endocrine.

În organele hematopoetice, pe lângă celulele reticulare, se evidenţiază celulele care constituie stadiile formării hematiilor, leucocitelor şi trombocitelor.

Scanned with OKEN Scanner

Ţesutul reticular îndeplineşte următoarele funcţii: *mecanică* (suport pentru parenchimul organelor hematoformatoare, al glandelor endocrine şi organelor parenchimatoase); *citogenezică* şi *fibrilogenezică* (revine celulelor reticulare nediferenţiate); *de apărare* (revine celulelor reticulare şi reticuloendoteliale); *hematopoetica* de formare a elementelor figurate ale sângelui în organele hematopoetice.

2.4.2.3. Corionul citogen

Se prezintă în organismul animal numai cu două localizări: în zona corticală a ovarului şi în lamina propria a mucoasei uterine (fig. 2.22; 2.23).

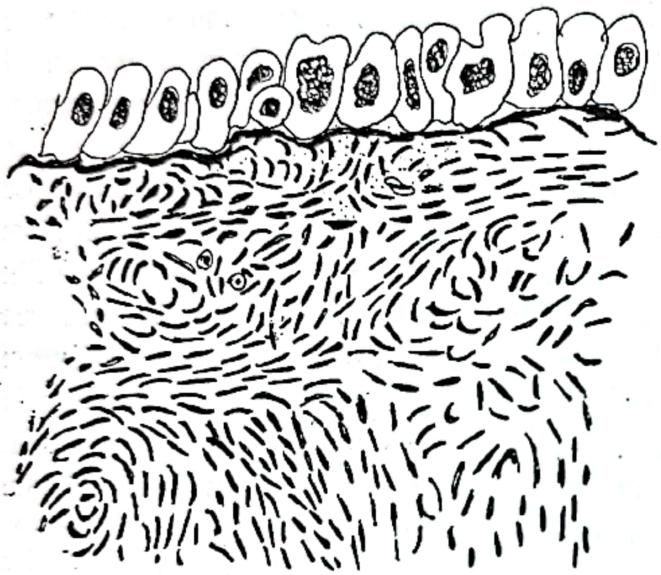


Fig. 2.22. ***Corionul citogen din zona corticală a ovarului***

În zona corticală a ovarului se remarcă o serie de formaţiuni ovalare numite foliculi (se vor studia la ovar), printre aceştia este răspândit corionul citogen. Acest ţesut este format din celule de aspect fusiform (fibroblaşti şi fibrociţi), rare mastocite şi plasmocite care se dispun sub formă de vârtejuri. Printre aceste celule se remarcă fibre de colagen extrem de rare şi substanţă fundamentală. Corionul citogen are aceste două localizări, deoarece, fiind un ţesut pur celular se pretează la multiplele modificări ce i le imprimă formaţiunile incluse, foliculii în cazul zonei corticale a ovarului şi glandele uterine în cazul laminei propria a mucoasei uterine. Astfel, corionul citogen poate fi foarte uşor disociat de foliculii în creştere din zona corticală a ovarului şi de glandele uterine din lamina propria a mucoasei uterine.

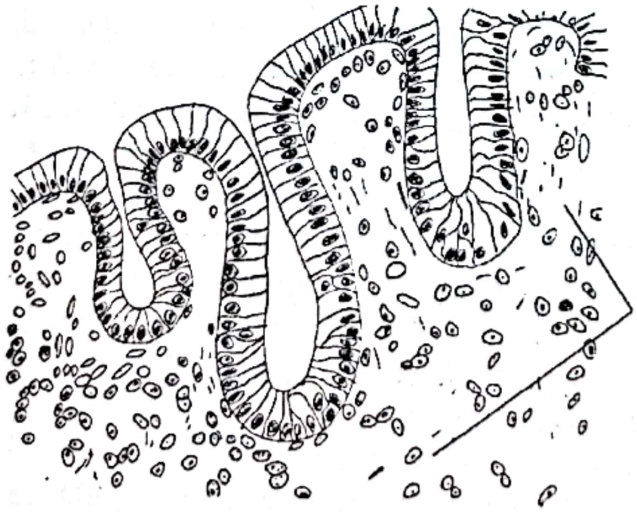


Fig. 2.23. ***Corionul citogen din mucoasa uterină*** *(endometru)*

2.4.2.4. Ţesutul adipos

Este o varietate de ţesut conjunctiv în care predomină *celulele adipoase*. Între celule se dispune *reţeaua de reticulină* şi *substanţa fundamentală redusă*.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele sunt prevăzute cu fibre nervoase adrenergice şi colinergice şi irigate de 1-2 capilare sanguine, sprijinite pe suportul de reticulină – arhitectonie care îşi are explicaţia în interrelaţiile dintre adipocite, sistemul nervos şi cel vascular.

În organism există două varietăţi de ţesuturi adipoase :

Ţesutul adipos unilocular – „alb" (fig. 2.21.B) *şi „galben"* (adipocitele conţin pigmenţi carotenoizi) este bogat în hipoderm, perniţele palmare şi plantare, regiunea axilară, capsule. Varietatea albă este întâlnită la suine (slănina) şi rumegătoare (seul), iar cea galbenă la cabaline.

Ţesutul adipos multilocular – brun, specific ursinelor în glanda de hibernare, este localizat la alte mamifere : perirenal, perimamar, perigenital, în seroase şi periarticular. Culoarea brună se datoreşte impregnării adipocitelor cu lipocromi.

Ţesutul adipos se formează prin adipopexie sau prin lipogeneză, sediul sintezei fiind mitocondria şi reticulul endoplasmic neted.

Ţesutul adipos constituie o *„rezervă alimentară"* pentru organisme. La speciile lipsite de păr formează un *strat izolator* care are rol de protecţie termică şi mecanic în amortizarea şocurilor (ţesutul adipos din jurul articulaţiilor şi cel din perniţele palmare şi plantare). Prin intervenţia lipocitelor în diferite procese de sinteză sau de catabolism, ţesutul adipos are *funcţie metabolică* (varietatea albă) şi *funcţie termoreglatoare* (varietatea brună).

Dezvoltarea ţesutului adipos este corelată direct cu specia, vârsta, cantitatea şi felul alimentaţiei, mecanismele de metabolizare a grăsimilor şi este influenţată de acţiunea hormonilor (sexuali, anterohipofizari, corticosuprarenali).

2.4.2.5. Ţesutul pigmentar

Are drept component principal celulele pigmentare, numeroase, asociate cu substanţa fundamentală şi fibre în cantitate redusă. Este bine reprezentat în coroida ochiului.

2.4.2.6. Ţesuturile conjunctive semiorientate

Sunt reprezentate de :

- *membranele seroase* (peritoneu, pleură, pericard, mezenter şi epiploon) ;
- *membranele fibroase* (dermul pielii, lamina propria a mucoaselor şi capsulele de acoperire a unor organe parenchimatoase).

Membranele seroase (pleură, pericard, peritoneu) sunt formate din lame de ţesut conjunctiv semiorientat, printre care se remarcă celule conjunctive (fibrocite, mastocite, adipocite). Faţa superficială a axului de ţesut conjunctiv este acoperită de un epiteliu pavimentos simplu (*mezoteliu,* format din celule aplatizate cu nucleul discoidal aşezat central). Acest ţesut se mai numeşte *ţesut mezoteliofasciculat* (fig. 2.24) sau *ţesut conjunctiv seromembranos.*

Scanned with OKEN Scanner

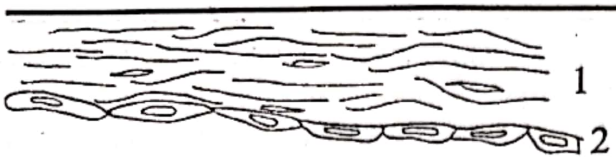


Fig. 2.24. *Seroasa*: 1-ax de ţesut conjunctiv; 2-epiteliu pavimentos simplu (*mezoteliu*)

Seroasele iau naştere prin transformarea ţesutului mezenchimal sub influenţa diferiţilor factori morfogenetici: creşterea, alunecarea şi schimbarea de poziţie a organelor în dezvoltare. Se disting două tipuri de seroase: *de legătură* şi *de căptuşire*. Seroasa rezultă din asocierea epiteliului monostratificat, aplatisat – *mezoteliul*, cu ţesutul conjunctiv lax. ţesutul conjunctiv formează axa (seroase ligamentare) sau corionul (seroase cavitare) organului. ţesutul conjunctiv este străbătut de vase sanguine şi limfatice, terminaţiuni nervoase libere şi încapsulate – *corpusculii Vater-Pacini*, care conferă organului sensibilitate deosebită.

Axa conjunctivă a seroaselor ligamentare (*mezenter, epiploon*) este acoperită pe ambele feţe de mezoteliu. Seroasele cavitare – *pleura, peritoneul, pericardul* – tapetează cavităţile virtuale. Ele se deosebesc de cele ligamentare, fiind formate din două foiţe: una *viscerală*, intim asociată cu organul pe care îl înveleşte şi alta *parietală*, care căptuşeşte şi face corp comun cu peretele cavităţii în care este conţinut organul. În structura fiecărei foiţe mezoteliul se găseşte la suprafaţă. Între cele două foiţe există un spaţiu virtual, care conţine o cantitate redusă de lichid (plasmă transsudată). Lichidul menţine o stare de umezeală continuă la suprafaţa mezoteliilor, favorizând alunecarea în cavitatea respectivă.

Celula mezotelială, poliedrică (cubică, pavimentoasă, prismatică), prin asociere, formează un strat continuu – *mezoteliul*. Modificările formei celulare sunt mai evidente în seroasele viscerale: cubice (alunecare redusă), pavimentoase (alunecare intensă), prismatice cu microvili (acumulare de lichide în cavitatea sau spaţiul dintre foiţe). Celulele se solidarizează prin interdigitaţii. Ele stabilesc relaţii şi cu celulele conjunctive submezoteliale, trimiţând prelungiri membrano-citoplasmatice în ţesutul conjunctiv subiacent. În citoplasma celulelor mezoteliale, slab bazofilă, sunt bine reprezentate mitocondriile, ribozomii, ergastoplasma şi incluziunile. În citoplasmă, activitatea enzimelor este intensă. Nucleul oval, sferic sau pavimentos este sărac în cromatină pulverulentă, cu 1-2 nucleoli.

Celula mezotelială are o mare capacitate de adaptare; îşi schimbă forma permiţând alunecarea organelor; devine înaltă (prismatică) şi emite microvili pentru absorbţie-resorbţie. Modificările în scop de absorbţie-resorbţie se manifestă în stări patologice, în cazul acumulării de lichide între foiţele seroaselor cavitare sau în cavităţi, când funcţia se exacerbează. Pe această plasticitate se bazează şi instituirea tratamentelor intracavitare (introducerea de substanţe medicamentoase în cavitatea pleurală, peritoneală, pericardică), când celulele mezoteliale devin prismatice cu microvili şi absorb.

Funcţiile seroaselor sunt conferite atât de mezoteliu, cât şi de ţesutul conjunctiv şi pot fi sistematizate în: funcţii de *filtrare, absorbţie-resorbţie* (celulele

Scanned with OKEN Scanner

mezoteliale), *fagocitoză* (celulele mezoteliale, celule conjunctive), *coloido-* şi *lipopexie* (celule conjunctive), de *protecţie* prin acoperire (celulele mezoteliale). În procesele inflamatorii ale viscerelor, seroasele formează bride care limitează extinderea procesului.

Mezenterul este o membrană seroasă formată din ţesut conjunctiv lax, vascularizat şi inervat, acoperită pe ambele feţe de mezoteliu (fig. 2.25). Mezenterul este o seroasă ligamentară care suspendă organele din cavitatea abdominală.

Epiploonul este o membrană seroasă care, la organismele tinere, are o structură compactă, similară cu cea a mezenterului. Prin înaintarea în vârstă, în structura acestuia apar orificii cu aspecte diferite, care conferă organului denumiri diferite: *ciuruit* (cu ochiuri similare ciurului), *ferestruit* (cu ochiuri ca de fereastră), *reticulat* (orificii identice unei reţele) (fig. 2.26). Mişcările se datoresc condensării fasciculelor de colagen şi a substanţei fundamentale în jurul vaselor; peste aceste trabecule conjunctive, care delimitează ochiurile, alunecă mezoteliul, învelindu-le. Apariţia ochiurilor facilitează trecerea continuă a leucocitelor din vase în cavitatea abdominală, creându-se astfel, local, un sistem de apărare.

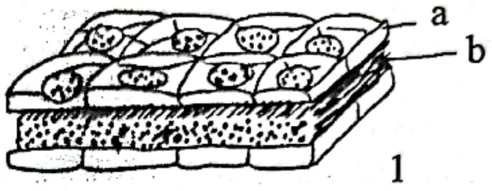


Fig. 2.25. ***Mezenter***: 1-schema mezenterului (a-mezoteliu; b-ax de ţesut conjunctiv). 2-se remarcă nucleii celulelor mezoteliale şi un capilar sanguin

Sinoviile (seroasele false) sunt membrane care căptuşesc capsulele fibroase ale articulaţiilor. Sinovia rezultă din asocierea ţesutului conjunctivo-elastic, vascularizat şi inervat, cu un epiteliu mono- sau multistratificat pavimentos. Celulele secretă *lichidul sinovial* cu rol de emolient, permiţând alunecarea suprafeţelor articulare şi hrănirea cartilajului articular. Celulele sinoviale se deosebesc de cele mezoteliale prin capacitate absorbantă şi funcţie fagică redusă. De aceea, în artrite sau în terapia intraarticulară, lichidele rămân acumulate în cavitate multă vreme, iar riscul infecţiilor este considerabil.

Scanned with OKEN Scanner

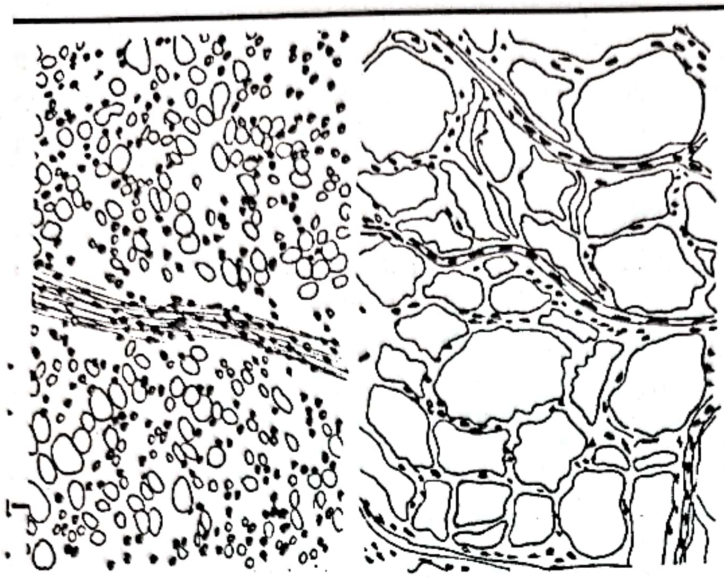


Fig. 2.26. ***Epiploon*** : I-fenestrat ; II-reticulat.

Membranele fibroase sunt reprezentate de *dermul pielii, lamina propria* a mucoaselor şi *capsulele* de acoperire a unor organe parenchimatoase.

Dermul pielii este un ţesut conjunctiv format din trei straturi : *papilar, palniform* şi *tendiniform.* În stratul papilar se evidenţiază : *fibrele de colagen* asociate în fascicule subţiri anastomozate în diferite sensuri, rare *fibre elastice* şi *de reticulină*, *celule conjunctive* şi *substanţă fundamentală*. În straturile planiform şi tendiniform, fasciculele de fibre de colagen sunt semiorientate, iar fibrele elastice şi de reticulină se găsesc printre aceste fascicule.

Lamina propria a mucoaselor spre exemplu corionul mucoasei vezicii urinare este un ţesut conjunctiv fibros *semiorientat* format din : fibre de colagen asociate în fascicule subţiri semiorientate, fibre elastice şi de reticulină, celule conjunctive şi substanţă fundamentală.

Capsulele de acoperire a unor organe (ficat, pancreas, splină, rinichi, limfonod, testicule). La periferia organului se remarcă capsula, care din punct de vedere histologic este un ţesut conjunctiv fibros semiorientat, format din fibre de colagen asociate în fascicule, fibre elastice şi de reticulină, celule conjunctive şi substanţă fundamentală.

2.4.2.7. Ţesuturile conjunctive fibroase propriu-zise

Se caracterizează prin predominanţa fibrelor colagene sau a celor elastice, care se dispun în structuri fasciculare sau lamelare. Numărul, dimensiunea şi orientarea fibrelor sunt în raport cu gradul de acţiune al factorilor morfogenetici mecanici (extensie, presiune, alunecare), care îşi exercită acţiunea în cursul dezvoltării. Substanţa fundamentală, în cantitate mică, înglobează celulele, care sunt fibroblaste modificate ; este condensată, fiind săracă în apă, dar bogată în substanţe organice.

Ţesutul conjunctiv tendinos. În structura acestei varietăţi de ţesut predomină fibrele colagene, care se concentrează în coloane tendinoase. Este un ţesut conjunctiv cu predominanţa fibrelor, format din *fibre de colagen* asociate în mănunchiuri, printre care se remarcă rare *fibre elastice* aşezate în reţea şi *celule conjunctive* denumite *tenocite*. Toate aceste elemente sunt unite printr-o substanţă fundamentală foarte

Scanned with OKEN Scanner

redusă. *Molecula de colagen* este lungă de aproximativ 280-300 nm şi are un diametru de 1,5 nm (fig. 2.27). Ea este formată din trei lanţuri polipeptidice, numite lanţuri alfa, răsucite helicoidal, unul în jurul celuilalt, ca firele într-o frânghie. Molecula de colagen realizează în mediul extracelular *microfibrile (protofibrile)* cu diametrul de 10-20 nm, ce prezintă o alternanţă regulată de benzi clare şi întunecate. Microfibrilele se grupează formând *fibrilele de colagen* groase de 0,2-0,5 μm. Acestea se asociază în număr diferit şi realizează *fibrele de colagen*, cu grosimea variabilă de 1-20 μm.

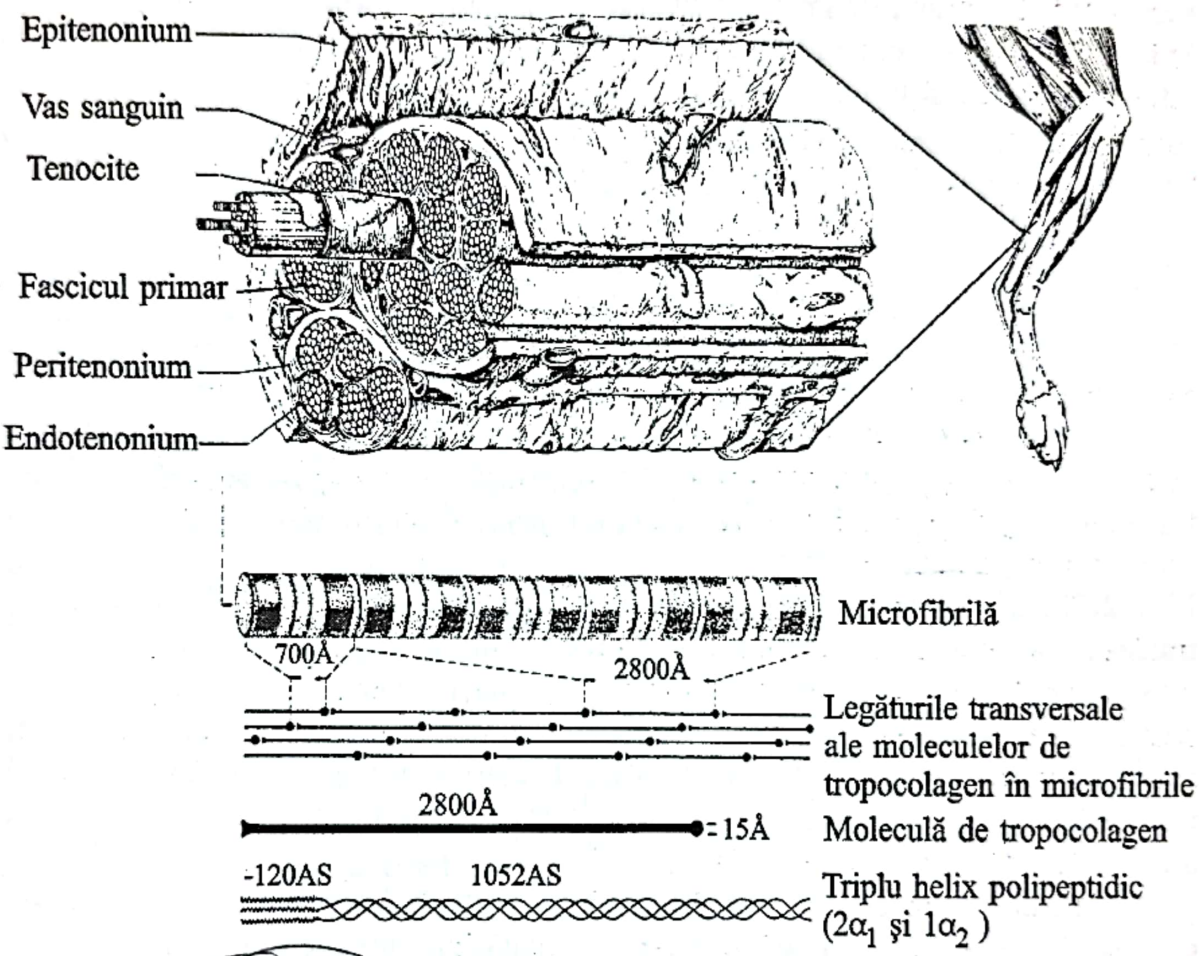


Fig. 2.27. ***Structura tendonului*** *(Liebich şi colab., 1999)*

În secţiune longitudinală prin tendon se observă mănunchiurile de fibre de colagen organizate în coloane paralele. Tenocitele alipite acestor coloane se remarcă numai prin nucleii lor coloraţi intens bazofil, aşezaţi perechi în şiruri paralele. Substanţa fundamentală este foarte redusă şi apare în spaţiile dintre coloanele de fibre conjunctive, colorată în roz (fig. 2.28). În secţiune transversală, se remarcă mănunchiurile de fibre de colagen secţionate transversal, care se grupează în coloane cu aspect punctiform. Tenocitele au formă stelată cu prelungiri ce înconjoară mănunchiurile de fibre de colagen. Datorită aspectului lor în formă de „aripi",

Scanned with OKEN Scanner

tenocitele sunt denumite celule *aliforme*. Substanţa fundamentală este foarte redusă şi ocupă spaţiile înguste dintre fibre şi celule. Mănunchiurile de fibre sunt grupate în unităţi structurale ce poartă denumirea de *tendoane simple* sau *tendoane primare*. Acestea se asociază formând *tendonul compus* sau *tendonul secundar*. Tendonul ca organ este format din asocierea mai multor tendoane secundare şi este învelit la periferie de o teacă de ţesut conjunctiv lax, denumită *epitenonium*. În interiorul organului, fiecare tendon secundar este învelit de o pătură de ţesut conjunctiv lax, denumită *peritenonium*, iar fiecare fascicul primar ce intră în structura tendonului secundar este separat de celelalte prin ţesut conjunctiv lax, numit *endotenonium*. Vasele şi nervii se remarcă numai în epi-, peri- şi endotenonium, nu pătrund în interiorul fasciculului.

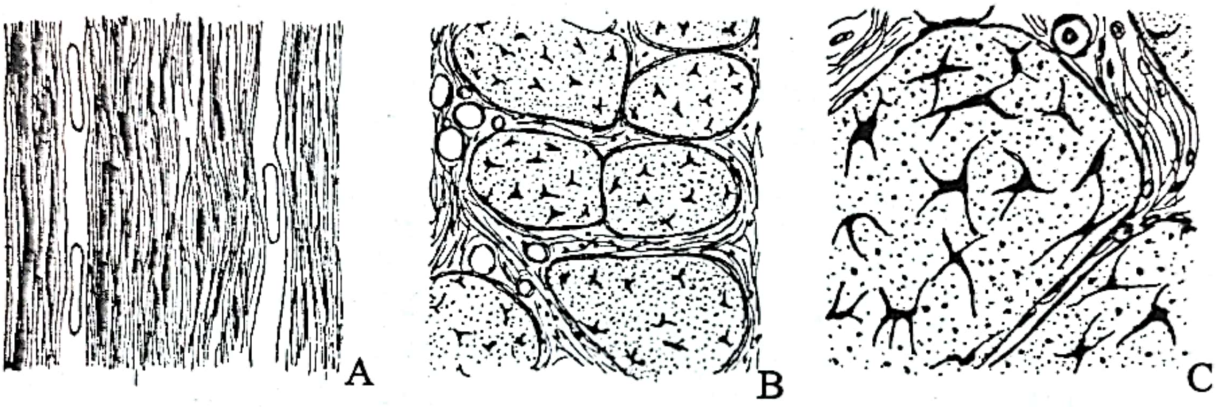


Fig. 2.28. ***Ţesut conjunctiv tendinos***: A-secţiune longitudinală; B-secţiune transversală; C-secţiune transversală (obiectiv mare).

Peritenoniumul (ţesut conjunctiv inervat şi vascularizat) conţine, de asemenea, numeroşi corpusculi senzitivi (Golgi, Vater-Pacini), mai bogaţi la locul de unire al muşchiului cu tendonul. Prezenţa corpusculilor este corelată cu sensibilitatea reflexă a tendoanelor.

În unele tendoane, teaca externă este formată din două foiţe conjunctive, una fixată pe tendon şi alta pe structura învecinată, iar între ele se găseşte o cavitate tapetată cu mezoteliu, ce conţine un lichid sinovial format din apă, proteine, glicozaminoglicani şi ioni. Acesta lubrefiază cavitatea, permiţând mişcări de alunecare a tendonului în teaca sa. El primeşte filete nervoase terminale. Tendonul face legătura dintre muşchi şi os, inserându-se cu unul din capete pe os, iar cu celălalt capăt fiind legat de muşchi prin *joncţiunea miotendinoasă*. La realizarea joncţiunii miotendinoase contribuie compuşi ai matricei extracelulare din tendon şi din muşchi (fibronectina, diferite tipuri de colagen, laminina, acetilcolinesteraza, heparan-sulfaţii, compuşi ai endomisiumului).

Scanned with OKEN Scanner

Ţesutul fascial este format în principal din *fibre de colagen* şi *rare fibre elastice*. Este un ţesut derivat din ţesutul conjunctiv perimuscular, care sub solicitarea forţelor mecanice de tracţiune s-a orientat pe două direcţii. Datorită acestui fapt, fibrele formează o reţea în ochiurile căreia sunt prezente celulele conjunctive.

Ţesutul aponevrotic este un ţesut conjunctiv cu predominanţa *fibrelor conjunctive*, în care fibrele de colagen se dispun pe două sau mai multe planuri suprapuse ; direcţia fibrelor paralele între ele dintr-un plan este perpendiculară pe direcţia fibrelor din planul următor. Fibrele elastice sunt rare. Celulele conjunctive se remarcă între planurile suprapuse, de aceea forma lor este neregulată, luând aspectele asemănătoare literelor de alfabet (T, Z, Y) (fig. 2.21.C).

Ţesutul elastic intră în structura ligamentelor elastice (ligamentul cervical). În coloraţia Verhoeff, fibrele elastice ce intră în structura acestui ligament sunt mai groase, dispuse paralel, printre care se remarcă rare fibre de reticulină şi celule conjunctive.

Ţesuturile conjunctive lamelare sunt : *ţesutul propriu al corneei ; tunica medie a arterelor de tip elastic ; capsula corpusculului Vater-Pacini*.

Ţesutul propriu al corneii este un ţesut conjunctiv orientat de tip lamelar. În secţiunea histologică prin cornee, acest ţesut este delimitat anterior de un epiteliu pavimentos stratificat de tip cornean ce se sprijină pe *membrana bazală Bowmann* (vezi epiteliile), iar posterior de un *mezoteliu,* care are o membrană bazală foarte groasă, de câţiva μm, *Descemet-Demours*. Între aceste două membrane bazale se structurează ţesutul propriu al corneei, fără vase sanguine care este format din fibre de colagen asociate în lamele paralele cu suprafaţa organului, unite prin punţi oblice de fibre de colagen. Celulele conjunctive denumite *celule corneene,* apar între aceste lame conjunctive, având o formă stelată cu multe prelungiri. Substanţa fundamentală este redusă.

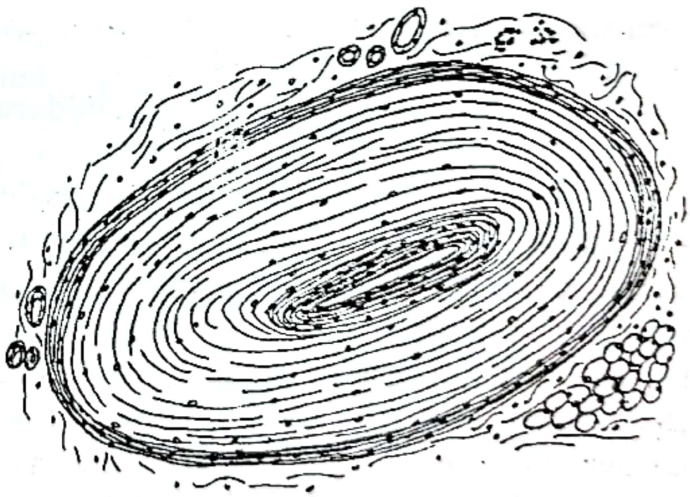


Fig. 2.29. *Ţesut conjunctiv lamelar în capsula corpusculului Vater-Pacini*

Tunica medie a arterelor de tip elastic. Este un ţesut conjunctiv orientat de tip lamelar. În secţiune histologică transversală prin aortă, coloraţia Verhoeff, fibrele elastice care în majoritatea lor structurează acest ţesut, sunt asociate în *lamine,* denumite *lamine elastice fenestrate.* Spaţiile dintre laminele elastice adiacente adăpostesc *fibre de colagen* rare, *celule conjunctive* (fibrocite, mastocite) şi *substanţă fundamentală* redusă.

Scanned with OKEN Scanner

Capsula corpusculului Vater-Pacini. Este un ţesut conjunctiv orientat, în care *fibrele de colagen* sunt grupate în fascicule paralele între ele, printre care se remarcă *celule conjunctive* cu aspect endoteliform şi *substanţa fundamentală acidofilă*. (fig. 2.29).

2.4.2.8. Ţesutul conjunctiv de granulaţie (de cicatrizare)

Se formează în locurile în care s-au produs distrugeri, înlocuind ţesuturile traumatizate. În edificarea acestui ţesut conjunctiv „de inflamaţie" participă celule mezenchimale, fibroblaşti, reţeaua capilară. În regiunea traumatizată, resturile din plagă sunt îndepărtate, prin fagie, de către celulele SMM. După curăţirea plăgii de resturile tisulare, locul este invadat de o reţea de capilare de *neoformaţie*. Reţeaua neocapilară provine din extinderea prin multiplicare a vaselor integre (intacte) de la marginea plăgii. În jurul capilarelor nou formate se concentrează, se multiplică şi se metaplaziază celulele mezenchimale. Împreună, vasele cu celulele mezenchimale adiacente formează *mugurii cărnoşi*, care au culoarea roşie (culoarea cărnii), datorită hematiilor din capilare. Celulele mezenchimale, prin metaplazie, devin fibroblaşti care vor secreta substanţa fundamentală şi precursorii fibrilari ai ţesutului conjunctiv. Regenerarea conjunctivă este urmată de regenerarea epiteliului. Celulele epiteliale intacte de la marginea plăgii se multiplică prin mitoze şi alunecă pe suprafaţa ţesutului conjunctiv cicatriceal, întregind refacerea (regenerarea). Regenerarea epiteliului este posibilă numai în cazul în care leziunea este redusă în suprafaţă. Contrar, epiteliul nu se reface, locul acestuia fiind luat de ţesutul conjunctiv şi astfel apare o cicatrice vicioasă – *cheloidul*.

2.5. Ţesuturile conjunctive semidure şi dure

Ţesuturile conjunctive semidure şi dure sunt ţesutul *cartilaginos* şi *osos*, varietăţi de ţesuturi conjunctive adaptate la rezistenţă şi susţinere. Ele provin din ţesutul conjunctiv tânăr (mezenchimal) prin metaplazie, supus în perioada de morfogeneză la acţiunea factorilor mecanici (tensiune, presiune, frecare), care provoacă modificarea acestuia. Sunt constituite din celule cartilaginoase (*condroblaste* şi *condrocite*) şi celule osoase *(osteoblaste, osteocite, osteoclaste)*, substanţa fundamentală *(condrină, oseină* impregnată cu săruri de calciu şi magneziu) şi fibre conjunctive (de colagen şi elastice).

2.5.1. Ţesuturile cartilaginoase

Acestea sunt ţesuturi conjunctive metaplaziate, care intră în structura histologică a unor piese cu rol de susţinere, fiind formate din cele trei elemente: substanţă fundamentală *(condrina)*; celule (tinere – *condroblaste* şi mature – *condrocite*) care se găsesc în cămăruţe localizate în substanţa fundamentală numite

Scanned with OKEN Scanner

condroplaste ; fibre de colagen şi elastice care de multe ori sunt mascate de bogăţia în substanţă fundamentală (tabelul 2.2).

Substanţa fundamentală este formată dintr-un gel ferm alcătuit din *condrină,* în compoziţia căreia intră glicoproteine şi condroitin-sulfaţi. Aceştia din urmă dau cartilajului bazofilia şi metacromazia, în timp ce glicoproteinele îi imprimă acidofilia.

Fibrele sunt reprezentate de fibre de colagen pentru ţesutul cartilaginos hialin şi fibros, în timp ce pentru cel elastic, sunt fibrele elastice. Acestea sunt dispuse fie în mod regulat, fie în fascicule subţiri orientate în raport cu forţele mecanice. În jurul celulelor cartilaginoase, fibrele sunt mai numeroase, formând *coşuleţe fibrilare.*

Celulele sunt reprezentate de *condroblaste* şi de *condrocite.* Condroblastele iau naştere din celulele mezenchimale sau prin metaplazia fibroblastelor. Centrii de condrificare formaţi dintr-un ţesut precartilaginos se dezvoltă în regiunile supuse unor frecări sau presiuni moderate, de lungă durată prin activitatea metabolică a condroblastelor.

Condroblastele sunt mici şi turtite cu citoplasma intens bazofilă, având nucleul cu 1-2 nucleoli şi bogat în cromatină. Bazofilia intensă este dată de reticulul endoplasmic granular foarte bine reprezentat la ME, care elaborează condrina substanţei fundamentale. Pe lângă acest organit se evidenţiază un complex Golgi dezvoltat, mitocondrii numeroase şi lizozomi.

Condrocitele sunt celule cartilaginoase adulte, de formă ovalară sau rotundă (fig. 2.30).

Fiecare condrocit este situat într-o cămăruţă numită *condroplast.* In vivo, celula ocupă întregul condroplast, însă în preparatele histologice, datorită retractării citoplasmei între celulă şi limita condroplastului, există un spaţiu liber *„optic vid".* Citoplasma condrocitelor este acidofilă, iar organitele sale sunt slab dezvoltate. Condrocitele pot fi răspândite în mod individual în substanţa fundamentală, însă adeseori ele sunt dispuse în colonii numite *grupe izogene* (de aceeaşi generaţie şi provenite din diviziunea unei celule unice). În ţesutul cartilaginos se remarcă două tipuri de grupe izogene : *grupe izogene axiale* (celulele sunt dispuse în coloane, rezultând din diviziuni care au loc în planuri paralele) şi *grupe izogene coronare* (celulele sunt dispuse sub formă de coroană, în acest caz diviziunile având loc în planuri diferite (fig. 2.31).

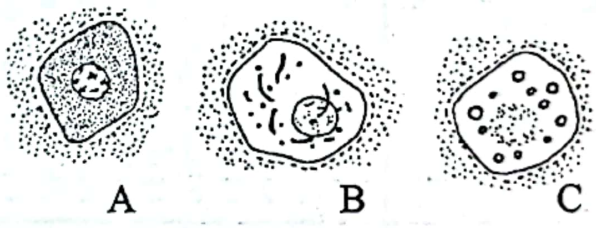


Fig. 2.30. ***Condrocite la MO*** **:** A-condrocit în condroplast ; B-condrocit cu mitocondrii ; C-condrocit în necrobioză

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2.2. *Ţesuturile cartilaginoase*
(caracteristici morfofiziologice)

Denumirea	Geneza	Componente	Morfologie, structură microscopică şi leptonică	Varietăţi de ţesut	Rol
Ţesuturi cartilaginoase	Ţesutul conjunctiv tânăr, prin metaplazie ca răspuns la factorii mecanici (tensiune, presiune, frecare în perioada de morfogeneză)	*Celule*: *condroblast, condrocit*	*Forma*: turtite (blaste), sferice, ovale. *Situate* în *condroplaste* (cămăruţe săpate în substanţa fundamentală). *Citoplasma*: bazofilă, bogată în mitocondrii, reticul rugos, granule de glicogen, GAG; lipide şi pigment numai în celulele îmbătrânite. *Nucleul*: rotund, oval, mic, cu 1-2 nucleoli. *Plasmalema* prezintă microvili numeroşi. *Celulele* sunt izolate sau în grupe izogene axiale sau coronare, delimitate de capsule proprii (celulele izolate) şi capsule comune (grupele). Secretă precursorii chimici ai substanţei fundamentale (condrina) şi a fibrelor.	*Hialin*: predomină *substanţa fundamentală*; grupe mari de celule izogene: în stări patologice fixează Ca^{2+} şi devine dur; se găseşte la nivelul septului nazal, cartilajelor de conjugare, laringiene, inele traheale, bronhii. *Elastic*: predomină *fibrele elastice*, în grupe izogene mici; se găseşte în pavilionul urechii, conductul auditiv extern, epiglotă. *Fibros*: condrocite rare, în grupe mici; *fibre colagene numeroase.*	*Mecanic*: permit alunecarea oaselor. *Rezervă:* de substanţe nutritive (glicogen, GAG). *Scheletul* embrionului, al unor segmente ale căilor respiratorii. Sediul osificării în formarea oaselor lungi (cartilajul hialin)
		Substanţa fundamentală	*Compoziţie chimică*: este un complex GAG, care conţine proteine colagene şi necolagene, acizi condroitin-sulfurici, apă 70%, substanţe minerale (NaCl).		
		Fibre	*Incluse* în matricea cartilaginoasă; diferă de la o varietate la alta; în general se condensează în jurul celulelor.		

Scanned with OKEN Scanner

Aceste grupe izogene sunt înconjurate de o capsulă comună ce formează *sfera condroidă*. Grupul izogenic împreună cu sfera condroidă, realizează unitatea morfologică a ţesutului cartilaginos, numită *condron*. Grupele izogene axiale se găsesc în cartilajele de osificare, în timp ce coronarele sunt reprezentate în cartilajele costale şi în toate regiunile în care forţele mecanice de presiune îşi exercită acţiunea simultan din mai multe direcţii. Ţesutul cartilaginos este un ţesut avascular, fiind lipsit de vase sanguine şi limfatice. Nutriţia celulelor se realizează prin difuziune de la nivelul capilarelor din *pericondru*. Metabolismul condrocitelor este asigurat prin substanţele ce difuzează în substanţa fundamentală.

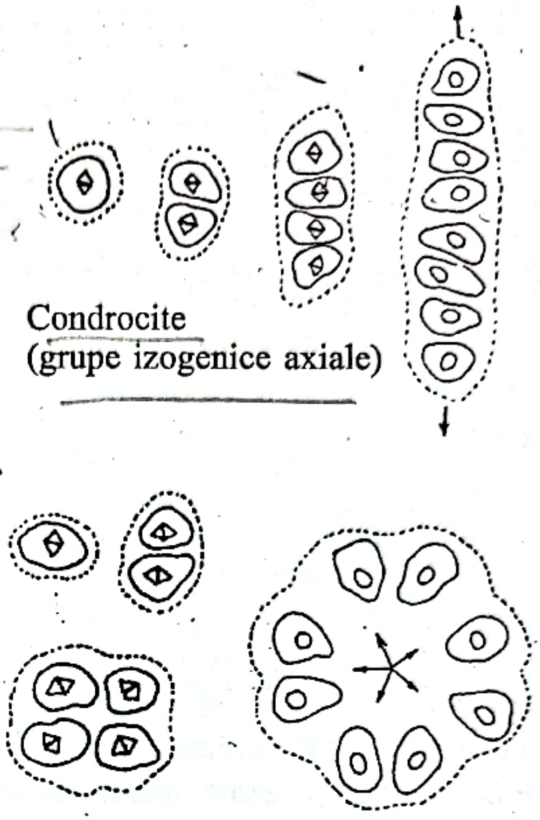


Fig. 2.31. ***Dispunerea condrocitelor în grupe izogene axiale şi coronare***

Pericondrul este reprezentat printr-o capsulă conjunctivă, bogat vascularizată şi inervată care acoperă cartilajul. El este format din două straturi: *stratul extern (vasculo-fibros)* constituit din fibre de colagen paralele şi dense printre care se remarcă celule conjunctive şi numeroase vase sanguine; *stratul intern (condrogen)* format din fibre de colagen, fibroblaste şi condroblaste, vascularizaţia fiind slabă la acest nivel (fig. 2.32). Prin metabolismul intens al condroblastelor se asigură elaborarea substanţei fundamentale şi creşterea în grosime a cartilajului (creştere prin *apoziţie*). Altă modalitate de creştere a cartilajului este *creşterea interstiţială*, prin multiplicarea condrocitelor din grupele izogene. Ţesutul cartilaginos se prezintă sub trei varietăţi: *hialin, elastic* şi *fibros* (fig. 2.33).

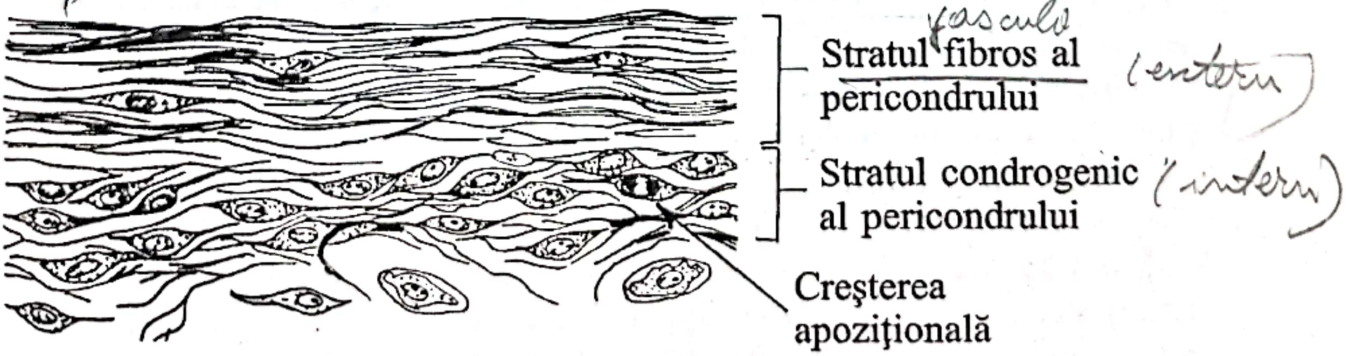


Fig. 2.32. ***Pericondru***

Scanned with OKEN Scanner

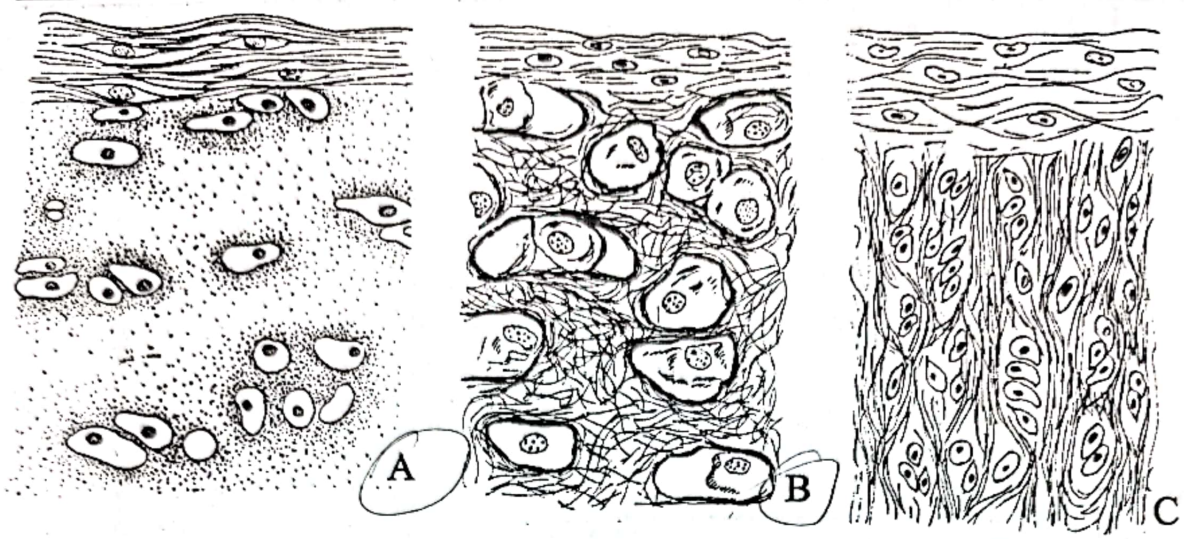


Fig. 2.33. ***Ţesut cartilaginos*** : A-hialin ; B-elastic ; C-fibros.

Ţesutul cartilaginos hialin este formă de cartilaj cea mai frecvent întâlnită în organismul animal. La embrion constituie în exclusivitate scheletul, în timp ce la adult este prezent la nivelul cartilajelor costale, în cartilajele articulare, în diferite piese de susţinere anexate aparatului respirator (în cartilajele laringelui, traheei şi bronhiilor primare şi interlobulare). Substanţa fundamentală este foarte bogată şi maschează fibrele de colagen, care se găsesc fie în jurul grupelor izogene sub formă de coşuleţ, fie în fascicule printre grupele izogene. După îndepărtarea condrinei cu tripsină, fibrele apar evidente sub cele două aspecte. Denumirea de hialin derivă de la faptul că substanţa fundamentală are un aspect sticlos (*hialos* = sticlos).

Ţesutul cartilaginos elastic se găseşte în zonele în care se cere o mare elasticitate (flexibilitate) a ţesuturilor respective (pavilionul urechii, epiglota şi cartilajele laringelui). Este compus din aceleaşi elemente, cu menţiunea că substanţa fundamentală este mai slab reprezentată, în timp ce reţeaua de fibre elastice este abundentă, (fig. 2.34) ceea ce imprimă culoarea galbenă a cartilajului elastic.

Ţesutul cartilaginos fibros este o formă intermediară între ţesutul conjunctiv dens şi cartilaj, fiind puţin reprezentat la mamifere (în discurile intervertebrale şi în ligamentul interpubian). Substanţa fundamentală este săracă, predomină fibrele de colagen, dispuse în fascicule groase, compacte şi orientate în direcţia forţelor mecanice de întindere. De la un fascicul la altul trec numeroase fibre sub formă de evantai, stabilind legătura între acestea şi imprimând cartilajului o rezistenţă deosebită. Celulele sunt rare şi de obicei sunt dispuse izolat, rar se evidenţiază în grupe izogene.

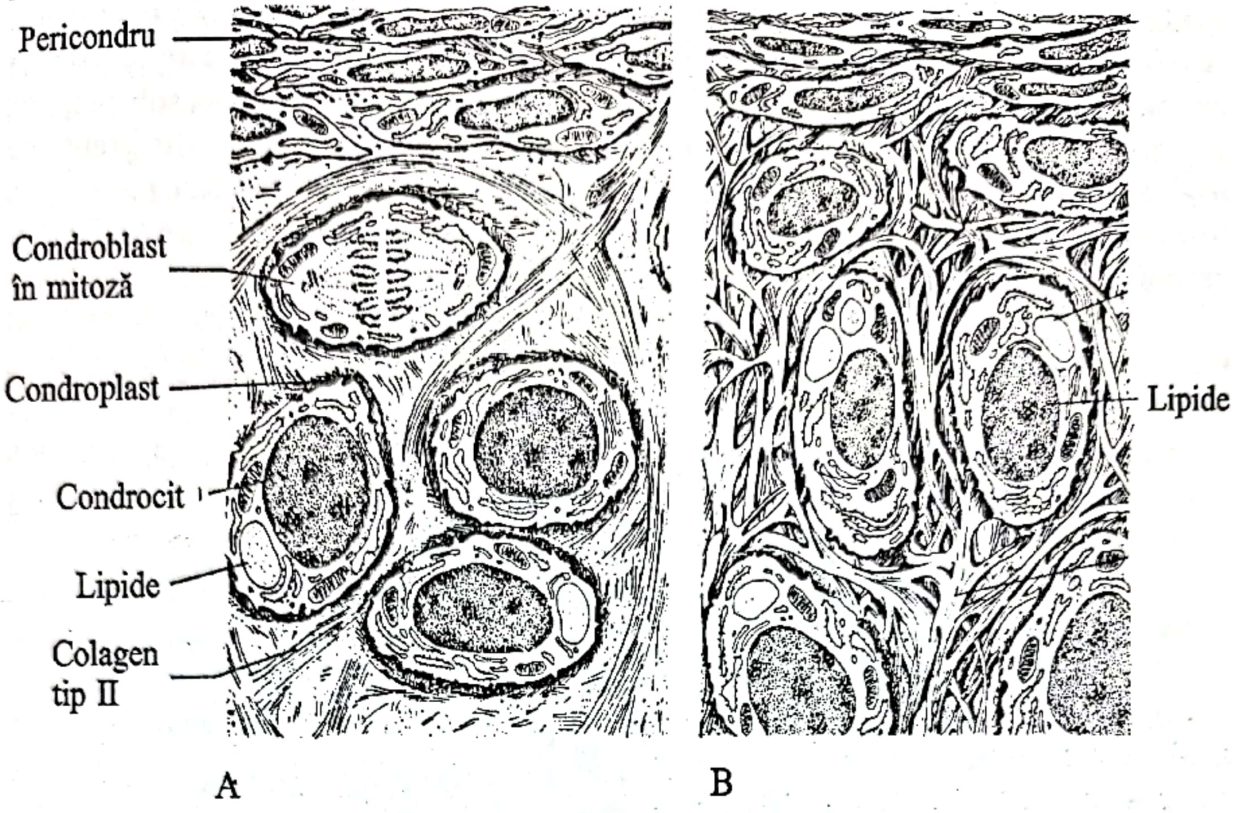


Fig. 2.34. ***Ţesutul cartilaginos hialin (A) şi elastic (B) la ME*** *(Liebich şi colab., 1999)*

2.5.1.1. Condrogeneza

Se realizează fie prin înmulţirea celulelor cartilaginoase, fie prin metaplazia celulelor mezenchimale. Există o creştere a cartilajelor prin apoziţie de la periferie spre profunzime. În acest caz, creşterea cartilajului este asigurată prin metaplazia celulelor conjunctive tinere din pericondru; acestea devin condroblaste şi se multiplică. O a doua modalitate o constituie *creşterea interstiţială*; astfel, celulele ţesutului conjunctiv tânăr se divid şi dau naştere la grupe (colonii) de celule izogene (de la grec. *izo* şi *genaos* = născut din aceeaşi mamă). Regenerarea cartilajelor se realizează prin aceleaşi mecanisme care asigură creşterea.

2.5.2. Ţesutul osos

Este forma cea mai dură, mai rigidă şi mai rezistentă a ţesutului conjunctiv, fiind organizat în structuri specializate numite *oase*. Este format din *substanţă fundamentală (oseină)* impregnată cu săruri de calciu şi magneziu, *fibre de colagen* şi *rare fibre elastice* incluse în substanţa fundamentală şi *celule (osteoblaste, osteocite* şi *osteoclaste)* (tabelul 2.3).

Substanţa fundamentală este constituită dintr-o materie proteică *(oseina)*, denumită şi *substanţă preosoasă* care este impregnată cu săruri minerale (fosfat tricalcic, carbonat de calciu şi carbonat de magneziu). La MO apare amorfă şi fin

Scanned with OKEN Scanner

granulară, datorită predominanţei în compoziţia ei a acizilor condroitin-sulfurici. Afinitatea pentru sărurile anorganice de calciu ca şi gradul de osificare al oseinei depind în cea mai mare măsură de polimerizarea sau de depolimerizarea substanţelor glicoprotidice. Componenta minerală (anorganică) reprezintă 60-70 % din greutatea osului, ea fiind mai redusă la embrion, la fetuşi şi în unele condiţii patologice (*osteomalacie*), este reprezentată de săruri de calciu şi magneziu în care fosfatul şi carbonatul de calciu au structura apatitei, ele fiind hidroxiapatite.

Fibrele sunt reprezentate în special de *fibre de colagen*, fibrele elastice fiind rare. Structurile colagene sunt dispuse în fascicule mici care constituie în totalitate *osteocolagenul*. Ele constituie armătura care dă rezistenţa caracteristică ţesuturilor osoase şi orientarea lor este helicoidală condiţionată de forţele mecanice (presiune şi tracţiune), care se exercită asupra osului (fig. 2.35).

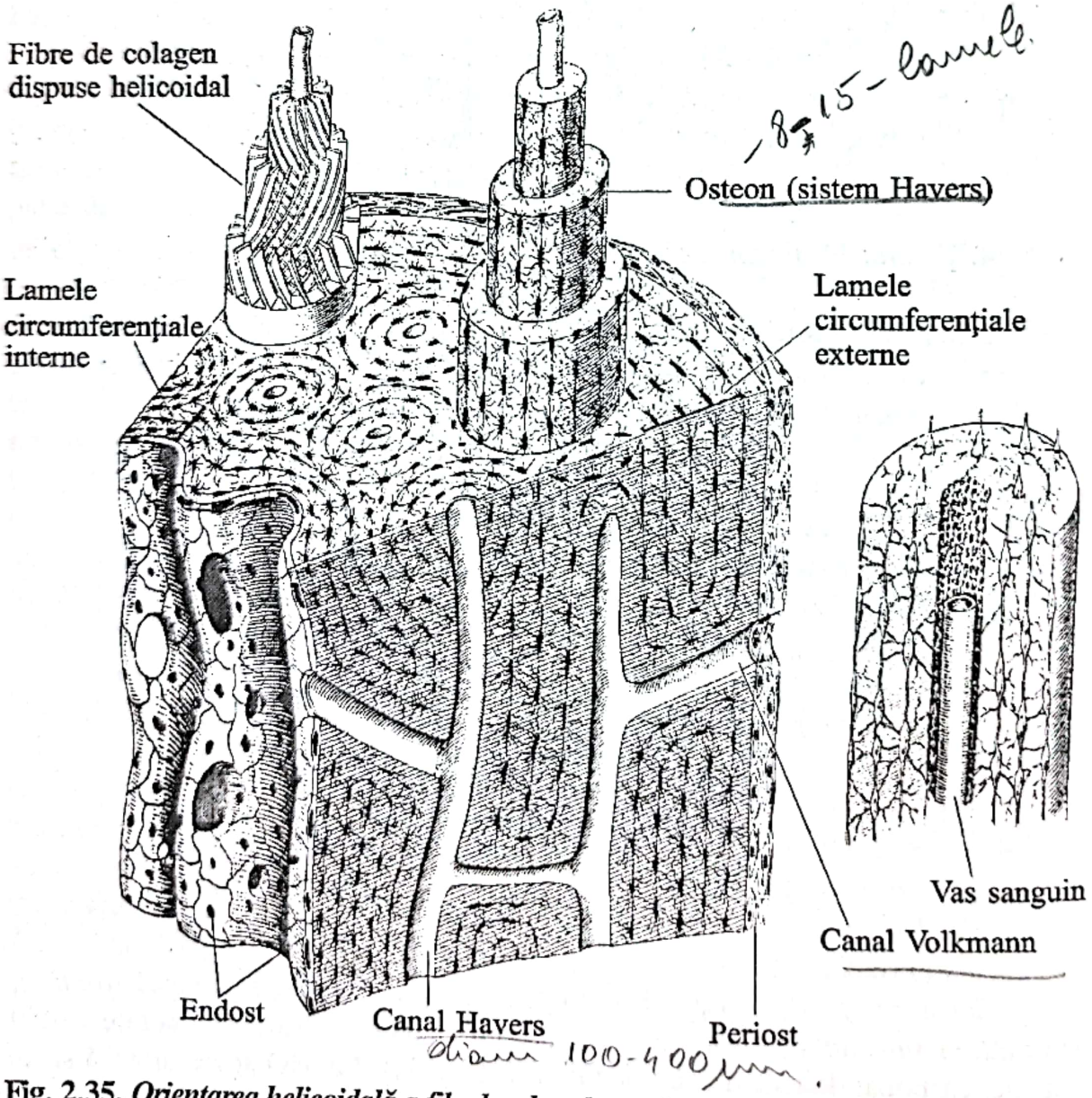


Fig. 2.35. ***Orientarea helicoidală a fibrelor de colagen în osteon*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Celulele osoase sunt de origine mezenchimală şi se clasifică în: *osteoblaste* (celule tinere, ce elaborează *oseina*), *osteocite* (celule mature, încapsulate în *osteoplaste* – cămăruţe) şi *osteoclaste* (distrugătoare de os).

Osteoblastele sunt celule tinere şi foarte active metabolic. Ele caracterizează ţesutul şi oasele tinere în dezvoltare. Provin direct din celula mezenchimală. Sunt celule mari de 15-20 μm, cu citoplasma abundentă şi intens bazofilă. Ele emit o serie de prelungiri prin care celulele învecinate vin în contact. Nucleul este mare, ovalar, dispus excentric şi conţine un nucleol mare şi evident.

La MO se evidenţiază zona Golgi în apropierea nucleului care apare ca o zonă întinsă numită *imagine Golgi negativă*. Mitocondriile sunt numeroase şi uniform repartizate în citoplasmă. La ME, bazofilia este dată de un bogat reticul endoplasmic granular legat de sinteza oseinei (fig. 2.36). Ribozomii sunt în număr mare şi apar fie ataşaţi de peretele reticulului endoplasmic, fie liberi. Echipamentul enzimatic este bogat şi este reprezentat de: *fosfataza alcalină, ATP-aza, enzime oxidoreducătoare* şi unele *hidrolaze acide*. Prezenţa osteoblastului este strâns legată de osteogeneză. Astfel, în ţesutul conjunctiv în care apar nuclei de osificare, celulele mezenchimale îşi schimbă forma, îşi amplifică activitatea elaboratorie şi secretorie şi se organizează în ordine epiteloidă în lungul traveelor conjunctive. Osteoblastul format va secreta *oseina,* substanţă fundamentală de bază a ţesutului osos, care se va impregna cu săruri de calciu. Pe măsura dezvoltării osului, ele îşi retrag prelungirile, devin *osteocite*, care rămân înglobate într-o lacună numită *osteoplast*. Prin retragerea prelungirilor osteoblastelor se creează un vast sistem canalicular care leagă între ele osteoplastele, prin care circulă lichidul interstiţial cu substanţe nutritive necesare metabolismului osteocitelor.

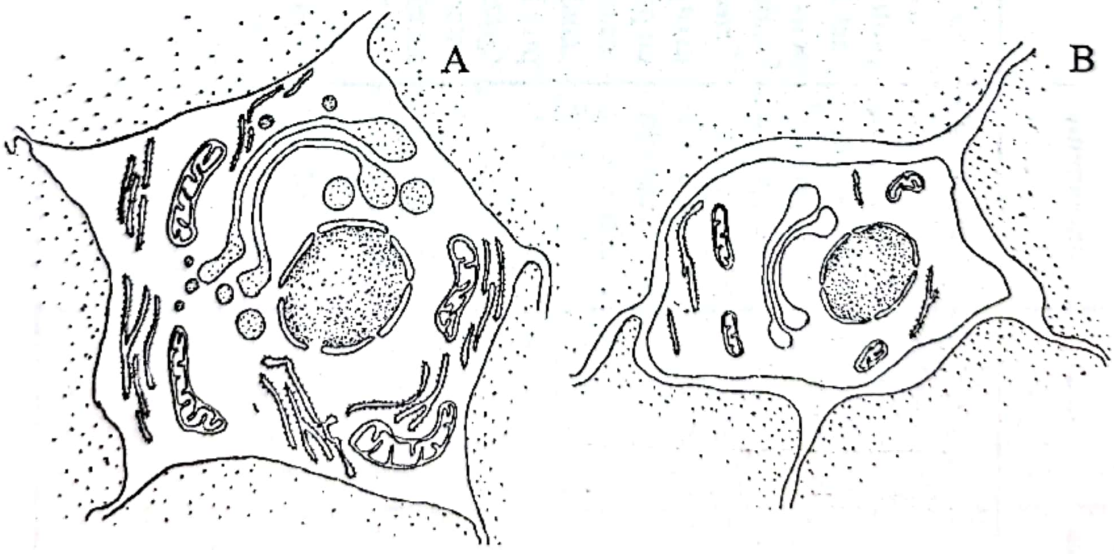


Fig. 2.36. ***Osteoblastul (A) şi osteocitul (B) la ME***

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2.3. *Ţesutul osos* (caracterele morfofiziologice)

Denumirea	Geneza	Componente	Morfologie, structură microscopică	Varietăţi de ţesut	Rol
Ţesut osos	Din ţesutul conjunctiv tânăr, prin metaplazie ca răspuns la factorii mecanici.	*Celule: osteoblast, osteocit, osteoclast* (provin din celula mezenchimală, prenatal, sau din monocit; postnatal, prin metaplazia acestora, datorită acţiunii factorilor mecanici). *Matricea osoasă* formată din: - *substanţă fundamentală* - *săruri minerale* *Fibre*	*Osteoblaste:* 15-20 µm, citoplasma bazofilă conţine organite implicate în proteinogeneză, sinteză de GAG şi lipide; metabolism intens demonstrat prin activitatea enzimelor (hidrolaze, oxidoreductaze, ATP-ază); secretă *oseina.* *Osteocitele:* citoplasma acidofilă, săracă în organite, nucleul heterocromatic; celule cu prelungiri, cu corp oval, situate în *osteoplaste*; prelungirile adăpostite în canaliculi osoşi, de care sunt izolate prin lichid interstiţial. *Osteoclastele* sunt plasmodii care apar în osteogeneză; prin osteoclazie, osteoliză şi resorbţie au rol în modelarea osului. Conţine glicoproteine din care predomină acizii condroitin sulfurici. $CaPO_4$, săruri de Mg, K şi Fe; diferă cantitativ în raport cu vârsta, stări patologice. *Fibre de colagen*, care se condensează formând lamele osoase, prin impregnarea substanţei fundamentale care le înglobează cu săruri minerale.	*Ţesutul osos spongios:* format din *areole* de diferite forme şi mărimi, limitate de travee osoase; areolele conţin *măduvă hematogenă.* Ex. de os spongios: osul embrionar, oasele plate, epifiza oaselor lungi. *Ţesutul osos compact* (diafiza oaselor lungi): este format din patru sisteme *fundamentale: intern şi extern, intermediare, haversiene;* sistemele Havers sunt formate din canale circumscrise de lame osoase concentrice, intermediarele şi fundamentalele, din lame paralele.	*Mecanic:* realizat prin fibre şi săruri care asigură rezistenţa la presiune, duritatea şi rigiditatea. *Metabolic:* oasele sunt principalele rezervoare de Ca^{2+} şi P^{3+} ; în timpul gestaţiei sărurile sunt utilizate pentru formarea scheletului fătului. *Formează* piesele scheletului.

Scanned with OKEN Scanner

Osteocitul este deci celula matură a ţesutului osos care este localizată în cămăruţă de aspect lenticular, săpat în substanţa fundamentală. Celula are formă lenticulară, prezintă o citoplasmă slab acidofilă, nucleul excentric şi cu nucleolul mic, iar citoplasma este puţin abundentă. Suprafaţa celulei prezintă prelungiri mai mici (fig. 2.37) şi mai puţin numeroase ca osteoblastul. Organitele celulare sunt reprezentate printr-un complex Golgi ce ocupă o zonă perinucleară, mitocondrii şi un slab reticul endoplasmic granular.

Prezenţa acestora arată că osteocitul nu trebuie privit ca o celulă în repaus sau epuizată, ci dimpotrivă o celulă cu un metabolism ce denotă o activitate secretorie prin care intervine în metabolismul local al osului.

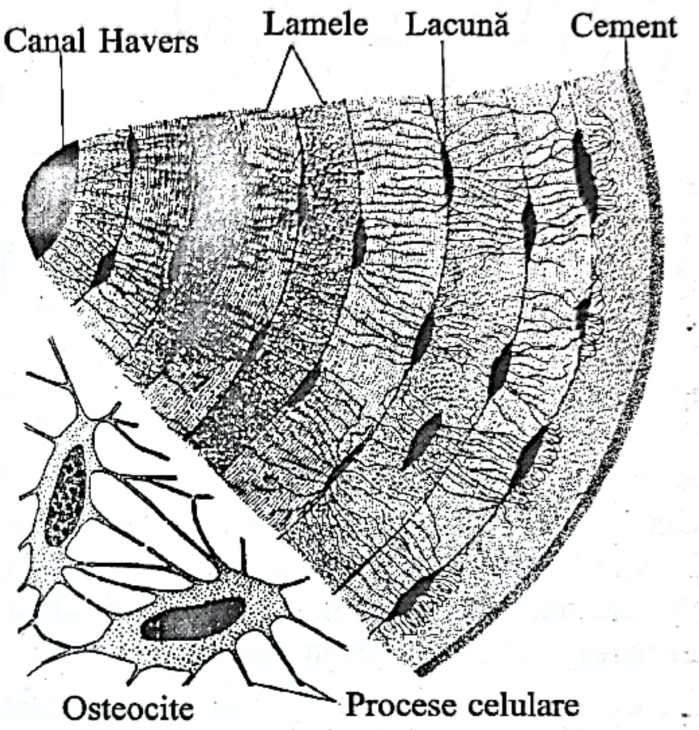


Fig. 2.37. ***Schema unui sector din sistemul Havers şi prelungirile osteocitelor*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Osteoclastul este o celulă tot de origine mezenchimală, provine din *monocit* (SMM), însă distrugătoare de os. Este de talie mare şi conţine în citoplasmă foarte mulţi nuclei (2-40), uneori ajung până la 100, fiind considerat un plasmodiu (fig. 2.38). Nucleii sunt toţi din aceeaşi generaţie, au aceeaşi formă şi mărime, sunt rotunzi sau ovalari şi săraci în cromatină. Osteoclastele nu trebuie confundate cu alte celule gigante, prezente în spaţiile osoase, ca de exemplu *megacariocitul*, ce reprezintă o etapă intermediară în trombocitopoeză. Osteoclastul este neregulat, sau globulos, prezintă prelungiri scurte în măciucă sau lungi şi subţiri.

Citoplasma este bazofilă la osteoclastele tinere şi pe măsură ce acestea devin mature, ea capătă o tentă acidofilă. În activitate, osteoclastul prezintă o *margine în perie* îndreptată spre suprafaţa de resorbţie osoasă. La ME, această margine în perie este reprezentată de numeroşi *microvili* foarte lungi. În citoplasmă, se evidenţiază o zonă Golgi redusă lângă nucleu, mitocondrii numeroase şi foarte mulţi lizozomi (fig. 2.39 ; 2.40). De asemenea, s-au observat numeroase vezicule cu un diametru de 10-20 nm delimitate de o membrană bine evidenţiată, ce conţin granule de calciu resorbite prin pinocitoză la nivelul microvililor. În apropierea

Scanned with OKEN Scanner

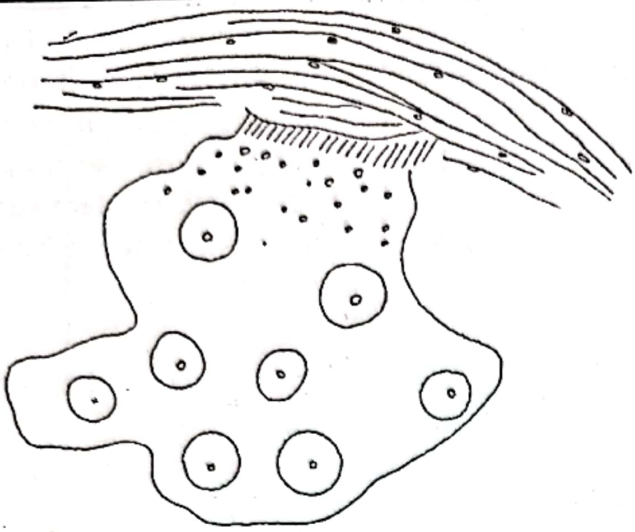


Fig. 2.38. *Osteoclastul*

marginei în perie, uneori se pot observa chiar fragmente de os. Pentru acest motiv, osteoclastele sunt considerate elemente *osteoclazice* (distrugătoare de os) şi în acelaşi timp, *osteolitice* (topitoare de os). Citoplasma conţine enzime: *fosfataza acidă, beta-glucuronidaza, oxido-reductori ai glucolizei aerobe şi anaerobe.* În lizozomi se evidenţiază enzime proteolitice care scindează oseina resorbită. Osteoclastul intervine deci în procese de osteogeneză după ce au fost constituite primele lamele osoase care sunt dispuse anarhic, fără un aranjament regulat. Acestea au nevoie de a fi remaniate în vederea constituirii osului definitiv, acţiune intreprinsă de osteoclast printr-o activitate resorbtivă. Imediat ce procesul de osificare este încheiat, osteoclastul pierde marginea în perie, devine mai puţin activ, organitele celulare sunt mai reduse ca şi activitatea enzimatică de la nivelul lizozomilor şi mitocondriilor. El intră într-o stare de repaus, fiind localizat în *lacunele osoase Howship,* dar îşi păstrează întreaga capacitate de a redeveni celulă activă, în cazul în care se impune formarea unui calus osos în oasele fracturate.

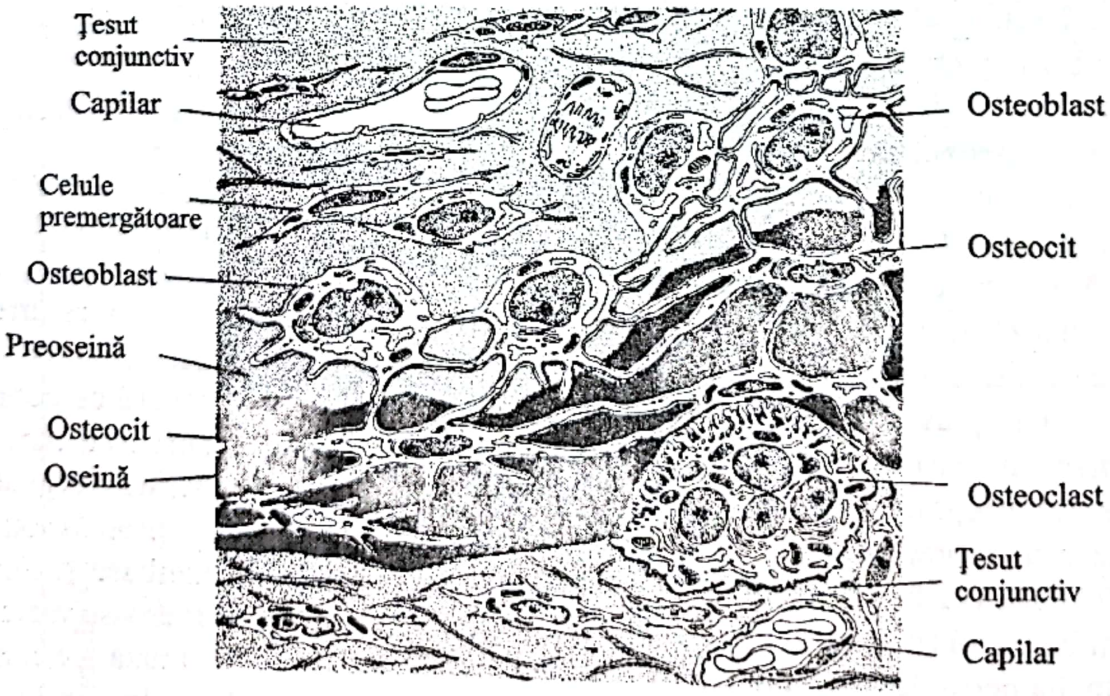


Fig. 2.39. *Osteoclastul, osteoblastul şi osteocitul. Osificarea desmală (Liebich şi colab., 1999)*

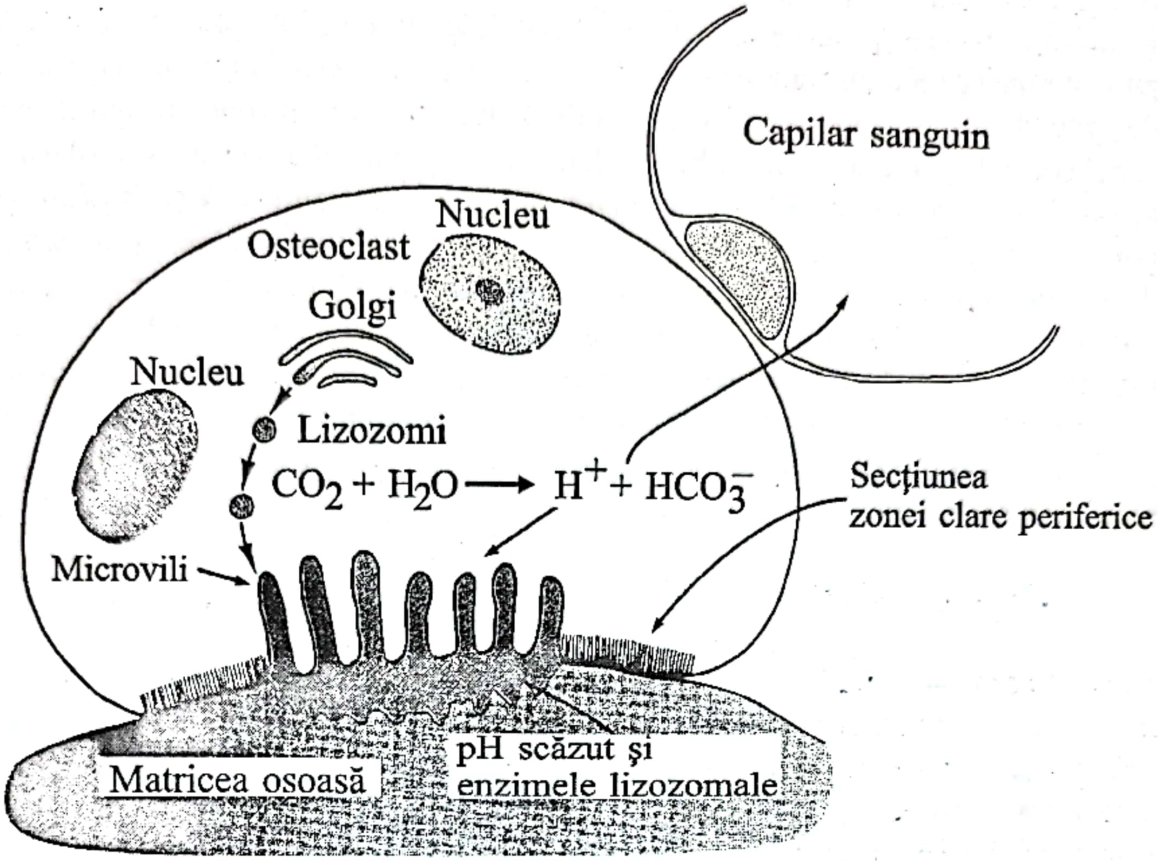


Fig. 2.40. ***Acţiunea enzimelor lizozomale din osteoclast asupra matricei osului*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Ţesutul osos matur se prezintă sub două aspecte: ţesutul osos compact şi ţesutul osos spongios.

2.5.2.1. Ţesutul osos compact

Unitatea morfologică a ţesutului osos compact este *osteonul* sau *sistemul Havers*. Osteoanele împreună cu sistemele interstiţiale (sisteme inter-haversiene = resturi de osteoane) intră în structura diafizelor oaselor lungi (fig. 2.41) şi a stratului extern al oaselor scurte şi late. Acest tip de os se formează prin osteogeneză intracartilaginoasă (*encondrală*). Osteonul este format dintr-un *canal Havers* localizat central, cu diametrul de 20-100 μm, dar poate atinge şi dimensiuni mai mari până la 400 μm. Canalele Havers parcurg osul pe toată lungimea lui, fiind paralele între ele şi legate prin canale transversale *Volkmann*. În lumenul canalului Havers se evidenţiază un ţesut conjunctiv delicat în care apar vase sanguine (o arteriolă, o venulă, capilare sanguine), vase limfatice, fibre de reticulină şi fibre nervoase amielinice. În jurul fiecărui canal Havers se organizează ţesutul osos sub formă de *lamele concentrice*, în număr de *8-15*, cu grosimea de *4-10 μm* fiecare. În lumina polarizată, lamele osoase apar într-o alternanţă regulată, obscură şi clară. Acest fenomen optic se

Scanned with OKEN Scanner

datoreşte direcţiei diferite de orientare a fibrelor de colagen din fiecare lamelă osoasă. În unele lamele, fibrele de colagen sunt paralele cu axul lung al osului (apărând punctiforme pe secţiune transversală). Acestea sunt mai puţin refringente dând aspectul de *lamelă întunecată* – polarizează lumina, deci sunt *anizotrope*. În alte lamele, fibrele de colagen sunt orientate helicoidal, deci perpendicular pe axul lung al osului, apărând în toată lungimea lor. Sunt mai refringente şi alcătuiesc *lamela clară* - nu polarizează lumina, sunt *izotrope*. În grosimea lamelelor osoase se găsesc *osteoplastele* de aspect lenticular în care sunt localizate osteocitele. Dimensiunea lor este de 22-50 μm pe direcţia lamelei osoase, 5-10 μm pe direcţia transversală pe lamelă. De la fiecare osteoplast pleacă prelungiri în toate direcţiile sub formă de canalicule osoase, stabilind un sistem de anastomoză a întregului osteon. Canaliculele osteoplastelor lamelei osoase interne se deschid în canalul Havers, în timp ce ale lamelei osoase periferice din osteon, se pot termina orb sau se pot recurba.

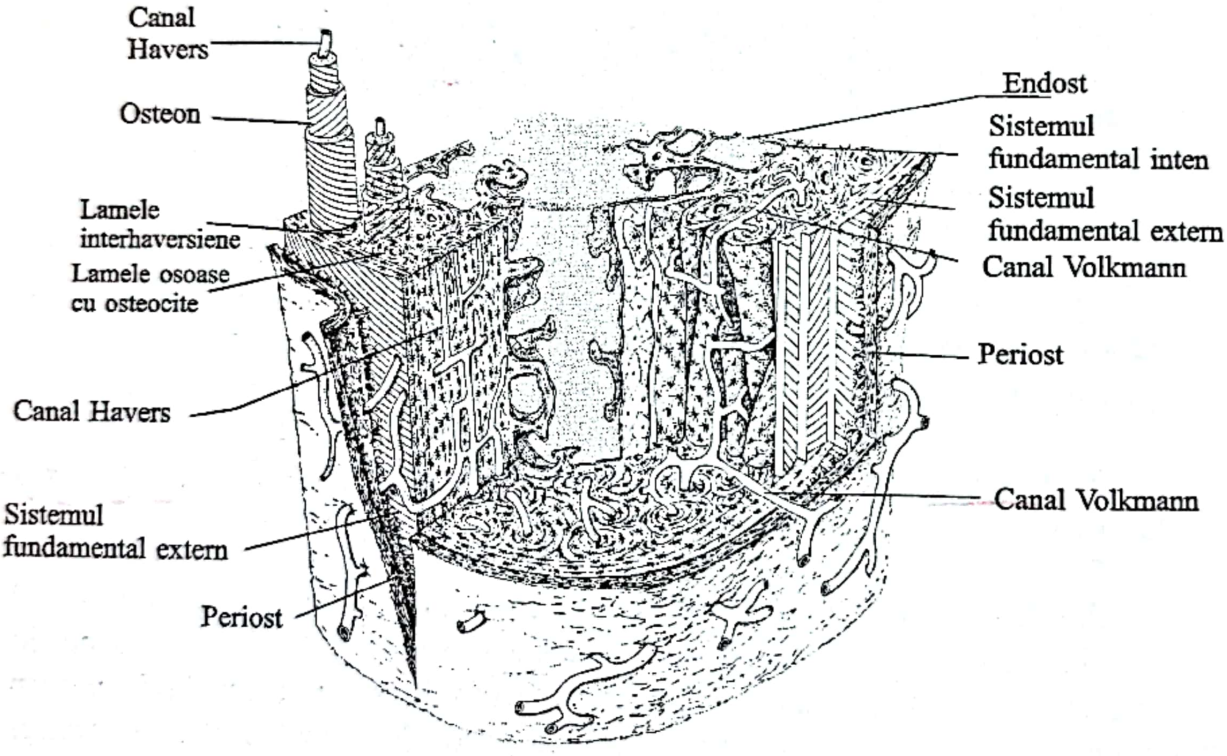


Fig. 2.41. ***Structura compactei diafizei osului lung*** *(Liebich şi colab., 1999)*

Sistemele interhaversiene sunt resturi de osteoane cu aspect arciform care provin din procesul de remodelare osoasă şi fac legătura dintre osteoane. Ele sunt alcătuite din lamele osoase incomplete, de forma unor arcuri de cerc fără să fie centrate pe un canal Havers.

În secţiune transversală prin osul lung se remarcă la periferie şi în jurul canalului medular, lamele osoase paralele, care formează *sistemul fundamental extern* şi *intern,* cu structură asemănătoare lamelor osoase ale osteonului.

Scanned with OKEN Scanner

Între aceste două sisteme se disting unităţile morfofuncţionale ale osului compact – *osteoanele* – (*sistemele Havers*) şi *sistemele interhaversiene* (resturi de osteoane) care fac legătura între sistemele haversiene.

2.5.2.2. Ţesutul osos spongios

Are un aspect spongios (buretos) vizibil şi macroscopic, determinat de existenţa unor cavităţi de mărimi şi forme variate de obicei intercomunicante, pline cu măduvă hematogenă. Osul spongios formează axul central al oaselor plate, şi intră în structura epifizelor oaselor lungi. Cavităţile areolelor sunt delimitate de *trabecule osoase (travee)* care sunt neregulat dispuse, în raport cu forţele de presiune şi tracţiune ce acţionează asupra osului (fig. 2.42). Grosimea traveelor este de 400 μm impusă de faptul că osteocitele pentru metabolismul lor nu pot fi situate la o distanţă mai mare de 200 μm faţă de capilarele sanguine.

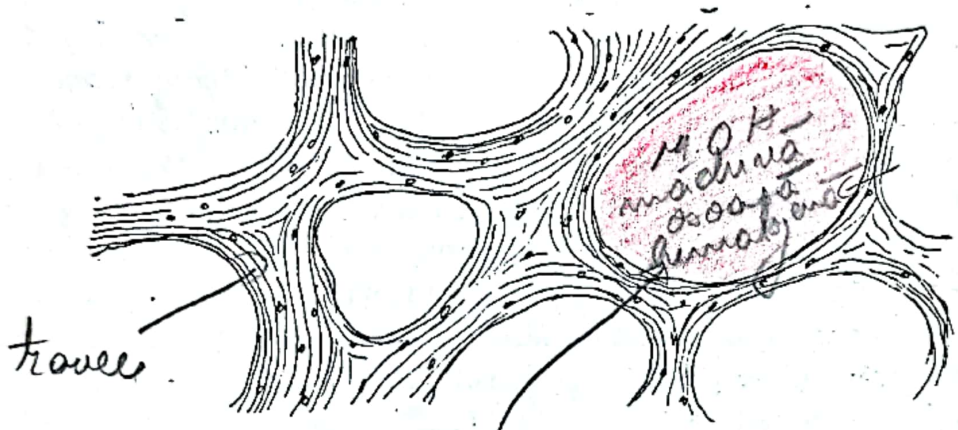


Fig. 2.42. *Ţesutul osos spongios*

2.5.2.3. Periostul

Formează stratul superficial al diafizelor oaselor lungi, a oaselor late şi scurte. Este o membrană de natură vasculo-conjunctivă care prezintă din punct de vedere morfologic şi funcţional două straturi: *stratul extern* (vasculo-fibros), în care predomină vasele şi fibrele de colagen, fiind stratul cel mai consistent al periostului şi *stratul intern* în care predomină celulele conjunctive, fibrele fiind mai rare. Fibrele de colagen sunt grupate de cele mai multe ori în benzi ce pătrund în substanţa osoasă cu o direcţie perpendiculară pe ea. Aceste fibre se numesc perforante sau *fibrele Sharpey.*

Stratul intern se numeşte şi *osteogen* deoarece are rol important în elaborarea oseinei ce intră în structura *sistemului fundamental extern* al osului. În perioada formării osului primar, acesta creşte în grosime prin organizarea sistemului fundamental extern, datorită activităţii secretoare a osteoblastelor din această regiune. Procesul de osteogeneză încheiat, duce la reducerea osteoblastelor şi stratul intern intră în perioada de linişte.

Scanned with OKEN Scanner

Inervaţia osului este bine reprezentată în periost prin filete nervoase amielinice, dispuse în formă de reţea. Adeseori filetele nervoase se termină liber pe structurile foiţei conjunctive periostice sau pot apărea încapsulate sub formă de *receptori Vater-Pacini* şi *Ruffini*. În ţesutul osos pot apărea filete nervoase ce însoţesc vasele sanguine în canalele Havers şi Volkmann.

În ţesutul osos, nervii sunt în majoritatea lor vasomotori şi trofici, de origine cerebro-spinală şi simpatică.

O formă particulară a periostului este *endostul,* reprezentat de un strat de ţesut conjunctiv ce acoperă cavitatea medulară a osului lung. Este asemănător ca structură periostului, remarcându-se în compoziţia sa fibre conjunctive, celule conjunctive şi vase sanguine. El contribuie în perioada vieţii intrauterine şi apoi după fătare, la formarea *sistemului fundamental intern al osului.*

2.5.2.4. Osteogeneza (osificarea, formarea osului)

Procesul de formare a ţesutului osos se realizează fie *intramembranos* pe ţesut conjunctiv *(osificare desmală),* fie pe *model cartilaginos (osificare encondrală),* care treptat, este distrus şi înlocuit cu ţesut osos. În ambele procese primul ţesut osos care apare este *ţesutul osos imatur* sau *primar*, cu viaţă scurtă ; acesta este curând înlocuit cu *ţesut osos definitiv, secundar* sau *lamelar*. În timpul osteogenezei pot apărea împreună, în acelaşi os, zone de ţesut osos imature, zone de resorbţie şi zone de ţesut osos lamelar. Există deci în permanenţă în os, procese active de sinteză şi de resorbţie care se menţin de altfel pe toată durata vieţii individului. După încetarea procesului de osificare şi constituire a osului, aceste procese se desfăşoară la o rată foarte redusă.

Oricare ar fi modul de formare al osului, mecanismul biologic osteogenetic este asemănător ; el presupune intervenţia mai multor factori printre care :

- prezenţa celulelor osteogenice (*osteoblaste*) şi osteoclazice (*osteoclaste*) ;
- prezenţa unei bogate vascularizaţii care să asigure viaţa celulelor osoase şi să aducă materialul necesar osificării ;
- formarea de către osteoblast a matricei preosoase (ţesutul osteoid) care conţine fibrele de colagen şi matricea extracelulară ;
- modelarea şi remodelarea osului nou format.

Ambele tipuri de osificare se desfăşoară în două faze : 1) *faza de construcţie* a osului ; 2) *faza de remaniere (modelare)* a osului. În faza de construcţie ia naştere osul brut, de tip embrionar (imatur). În faza de remaniere, prin îndepărtarea excesului de substanţe minerale, osul imatur este înlocuit cu osul definitiv (matur). În ambele modalităţi osificarea nu se realizează prin metaplazia ţesutului conjunctiv adult sau a celui cartilaginos în ţesut osos, ţesutul care se metaplaziază fiind ţesutul conjunctiv tânăr (*mezenchimal*) ; acesta înlocuieşte ţesutul-gazdă în care se formează.

Scanned with OKEN Scanner

Osificarea desmală. În faza de construcţie apar nenumărate câmpuri (puncte) de osificare formate din aglomerări de celule *mezenchimale* şi o reţea capilară. Celulele secretă precursori fibrilari, care se concentrează în anumite puncte ale câmpului constituind *lamele de direcţie.* Prin metaplazie, celulele mezenchimale devin *osteoblaste* (fig. 2.43). Acestea migrează şi se dispun în jurul lamelor de direcţie, împreună formând *lamele preosoase* care, prin impregnare cu săruri minerale, devin *lame osoase.* Procesul continuă în acelaşi mod, şi prin îngroşarea lamelelor se formează peretele osului.

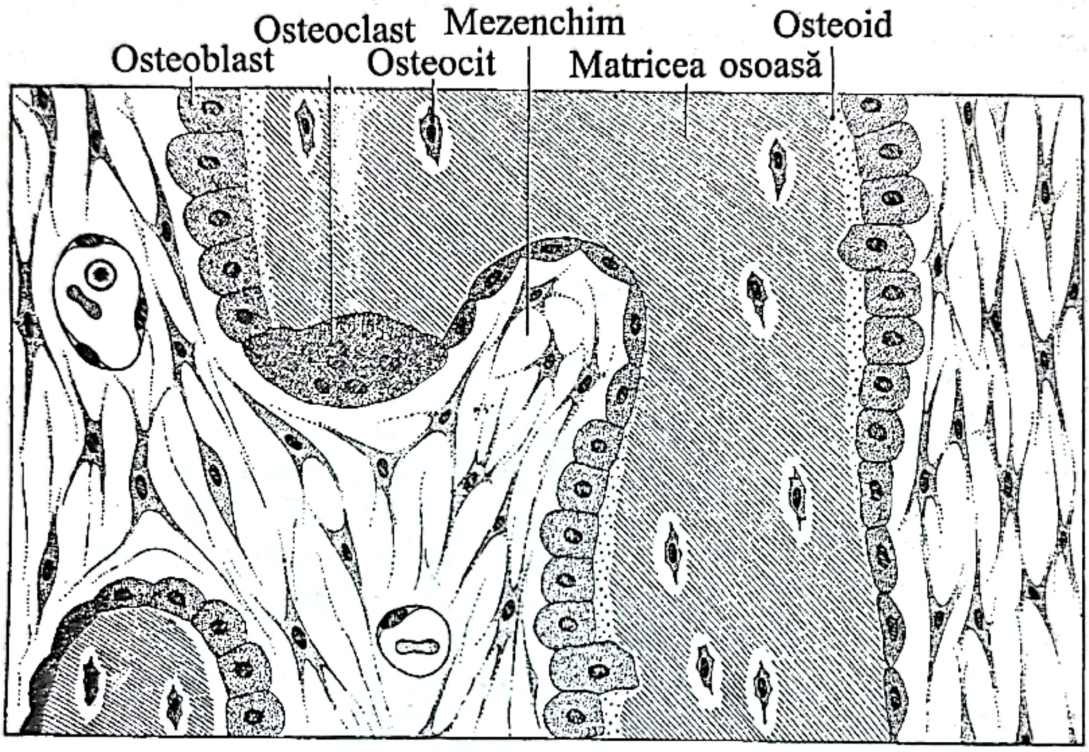


Fig. 2.43. ***Osificarea desmală.*** Osteoblastele care provin din celulele mezenchimale şi se dispun în ordine epiteloidă elaborând fibrele de colagen şi substanţa fundamentală *(Junqueira şi colab., 1998)*

Faza de construcţie este anarhică; substanţele minerale se depun în exces. „Modelarea" (îndepărtarea excesului mineral) se realizează prin acţiunea *osteoclastelor* – plasmodii provenite din celulele mezenchimale. În osteoclaste se află în exces lizozomii şi prezintă, de asemenea, margine în perie prin care se prind de lamele osoase. Prin dubla acţiune de osteoclazie şi osteoliză, ele „erodează" substanţele minerale în exces. Osteoclazia şi osteoliza sunt procese paralele. Surplusul de substanţe minerale este transferat pe cale sanguină în alte zone de osificare ale aceluiaşi câmp, sau în alte câmpuri. Surplusul de ţesut mezenchimal care nu a participat la osificare, împreună cu capilarele, se transformă în *măduvă roşie hematogenă.*

Scanned with OKEN Scanner

Osificarea encondrală. Este caracteristică formării oaselor lungi, oaselor centurii pelvine şi toracice, oaselor vertebrelor şi oaselor bazei craniului. Osificarea encondrală se realizează într-un model cartilaginos şi implică înlocuirea ţesutului cartilaginos prin ţesut osos. Are loc la embrion şi făt, apoi continuă după fătare unde se poate observa în plină desfăşurare la nivelul *cartilajului de conjugare* situat între diafiză şi epifize. În această regiune se produc anumite modificări care duc la edificarea unor zone cu structuri specifice (fig. 2.44). Prima zonă este zona *cartilajului hialin* obişnuit în care se observă structura histologică normală a ţesutului cartilaginos hialin. Prin mitoza deosebit de activă a condrocitelor, acestea se organizează în grupuri izogene axiale aşezate paralel între ele imprimând zonei, aspectul de *cartilaj hialin seriat*. Condrocitele se maturează, în citoplasma lor evidenţiindu-se cantităţi crescute de glicogen şi o bogată activitate a fosfatazei alcaline. Talia condrocitelor sporeşte, structurând *zona cartilajului hipertrofiat*. După

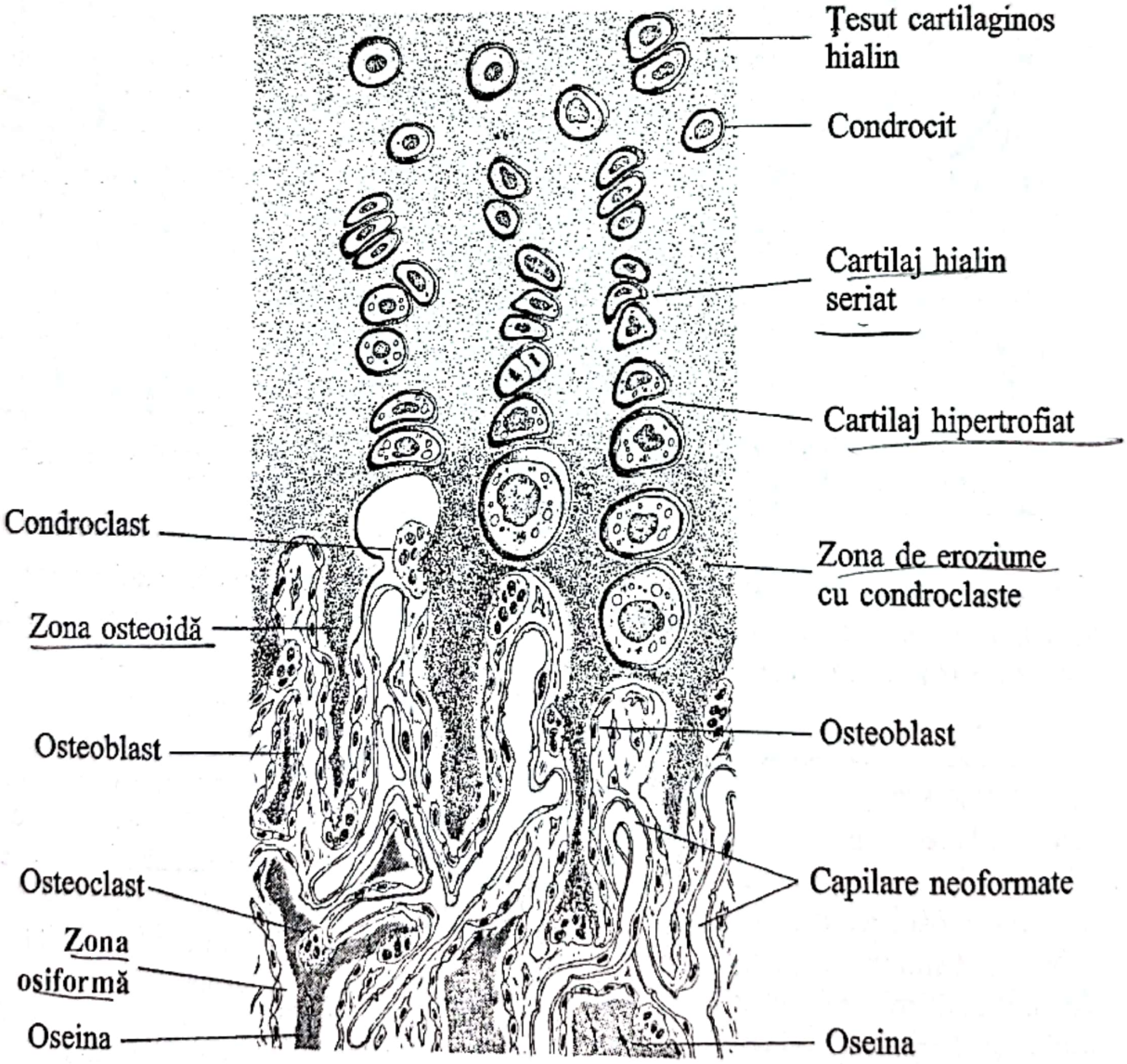


Fig. 2.44. ***Osificarea encondrală*** *(Liebich şi colab., 1999)*

Scanned with OKEN Scanner

necrobioza celulelor cartilaginoase, substanţa fundamentală este resorbită, constituindu-se o serie de tunele delimitate de pereţi ai matricei cartilajului. În aceste tunele pătrund vasele de sânge şi ţesutul conjunctiv care aduc elementele osteoformatoare. Această zonă poartă denumirea de *zona de eroziune,* datorită aspectului său. Urmează *zona osteoidă,* în care celulele mezenchimale devin *osteoblaste*, se aranjează în şir (*ordine epiteloidă*) şi încep elaborarea intensă de oseină care se dispune sub formă de lamele concentrice. Prin mineralizarea lor, ia naştere ţesutul osos, evidenţiat foarte bine la nivelul *zonei osiforme.* ţesutul osos rezultat va fi de tip embrionar brut, iar el va fi remodelat într-un ţesut osos matur. Un rol important în acest proces îl au osteoclastele.

Deşi cele două tipuri de osificare sunt procese diferite, ele depind de anumiţi factori comuni : a) vascularizaţie bogată care asigură atât necesităţile energetice cât şi cantităţile adecvate de calciu şi fosfor (sub formă de ioni) ; b) prezenţa de *osteoblaste* care elaborează şi depun *oseina* ; c) secretarea de către osteoblaste a fosfatazei alcaline, enzimă necesară mineralizării substanţei fundamentale organice depuse. Factorii care controlează procesele de osificare şi osteogeneză sunt : hormonul somatotrop (influenţează creşterea osului), hormonul paratiroidian - parathormonul (reglează circulaţia calciului în ţesutul osos), hormonul tiroidian (cu o influenţă nespecifică asupra creşterii osoase), hormonii gonadotropi (modifică apariţia centrilor de osificare) şi vitamine (D_2, A şi C).

2.5.2.5. Măduva osoasă

Se prezintă sub mai multe aspecte :

- *Măduva osoasă osteogenă* este prezentă în cursul osteogenezei fiind formată dintr-o *reţea de reticulină*, numeroase celule formatoare de os (*osteoblaste* şi *osteoclaste*) şi *vase sanguine.*

- *Măduva roşie hematogenă* (*hematoformatoare* sau *hematopoetică),* se găseşte la adult în oasele late (stern), în corpurile vertebrelor (coloana dorsală). Ea formează în permanenţă elemenetele figurate ale sângelui. În structura ei se evidenţiază *ţesut conjunctiv reticular*, în reţeaua căruia apar un număr mare de celule aparţinând seriei *roşii eritrocitare*, *albe leucocitare* şi *seriei megakariocitare* pentru plachetele sanguine. Pe lângă acestea apar numeroase capilare sinusoide.

- *Măduva galbenă* ocupă de obicei cavitatea medulară a diafizei oaselor lungi. Reţeaua de reticulină cuprinde în ochiurile ei *adipocite* care dau culoarea galbenă. În caz de solicitare crescută, ca în anemii sau hemoragii, măduva galbenă se transformă temporar în măduvă roşie hematogenă.

- *Măduva cenuşie fibrilară* este măduva oaselor la animalele în vârstă. Conţine în principal fibre conjunctive şi puţine celule, de aspect veziculos.

- *Măduva gelatinoasă* apare în cazuri patologice.

Scanned with OKEN Scanner

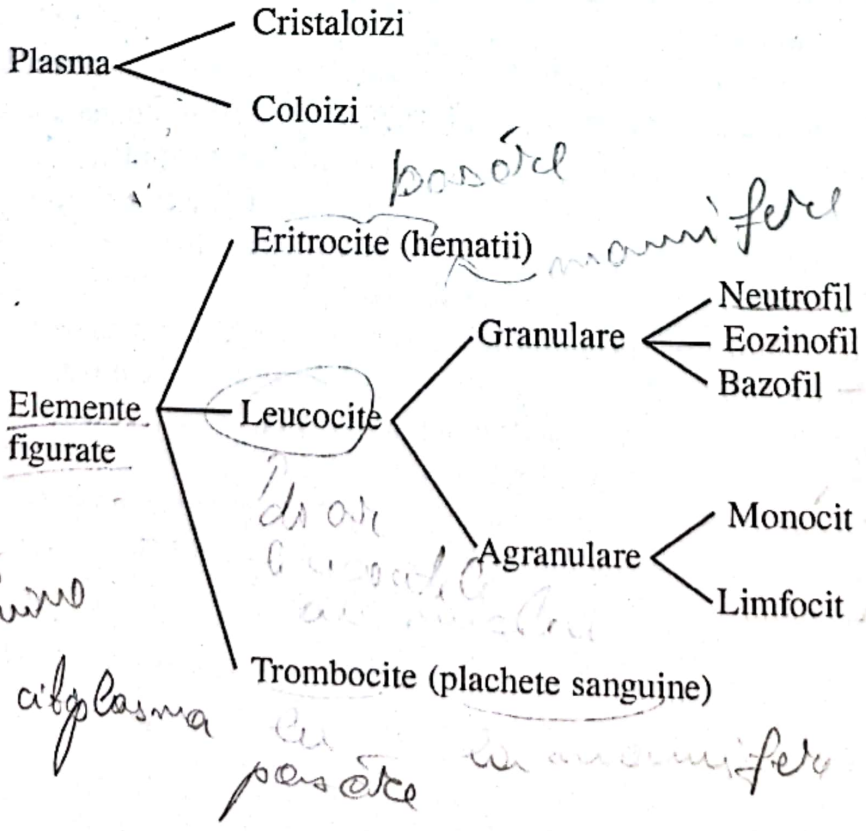
3. ŢESUTUL SANGUIN

Reprezintă un sistem complex format din *plasmă* şi *elemente figurate* care asigură nutriţia, respiraţia şi excreţia celulelor, vehiculează produşii de elaborare şi îndeplineşte funcţii de apărare. Prin organele hematoformatoare ataşate vaselor, sângele asigură fluxul continuu şi permanenta primenire a leucocitelor, eritrocitelor şi trombocitelor. Împreună cu limfa, lichidul interstiţial şi alte umori organice formează mediile interne ale organismului.

Plasma este componenta fluidă, bogată în apă, substanţe anorganice şi organice. Asigură nutriţia întregului organism, având semnificaţia unei substanţe interstiţiale care înglobează elemenetele figurate în tranzit ; vehiculează substanţele nutritive şi alţi componenţi necesari organismului (săruri minerale, vitamine etc.).

La nivelul capilarelor dinspre arteriole, unde *presiunea hidrostatică* depăşeşte *presiunea coloid-osmotică* a plasmei (*presiunea oncotică*), prin endoteliul vascular şi membrana sa bazală transudă un lichid cu o compoziţie chimică asemănătoare cu a plasmei sanguine (*lichidul interstiţial*). Acesta trece în substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv, scaldă celulele sale, cărora le furnizează substanţele necesare metabolismului şi funcţiilor lor şi apoi transportă de la acestea la sânge produşii lor de catabolism. La extremitatea spre venulă a capilarului predomină presiunea oncotică care aspiră din spaţiul interstiţial, lichidul ce conţine produşii de catabolism. Acestea pe baza presiunii hidrostatice restante, sunt dirijate spre organele de epurare (rinichi, pulmon, ficat, piele). O parte din lichidul interstiţial ajunge în capilarele limfatice şi pe calea sistemului vascular limfatic constituie *limfa*.

Sângele este format din plasmă şi elemente figurate.



3.1. Hematiile (eritrocitele)

Eritrocitele (gr. *erithros* = roşu) au structura adaptată pentru funcţia de transport a gazelor. La mamifere ele sunt celule anucleate de aceea se numesc *hematii (globule roşii)* iar la vertebratele inferioare (peşti, batracieni, păsări) prezintă nucleu, numindu-se *eritrocite* (fig. 3.1 ; 3.2). Se formează în ţesutul mieloid, au o durată medie de viaţă de 120 zile şi sunt distruse (cele îmbătrânite) de SMM din splină (cu precădere) şi din alte organe hematopoetice (măduva roşie hematogenă, ficat, limfonozi).

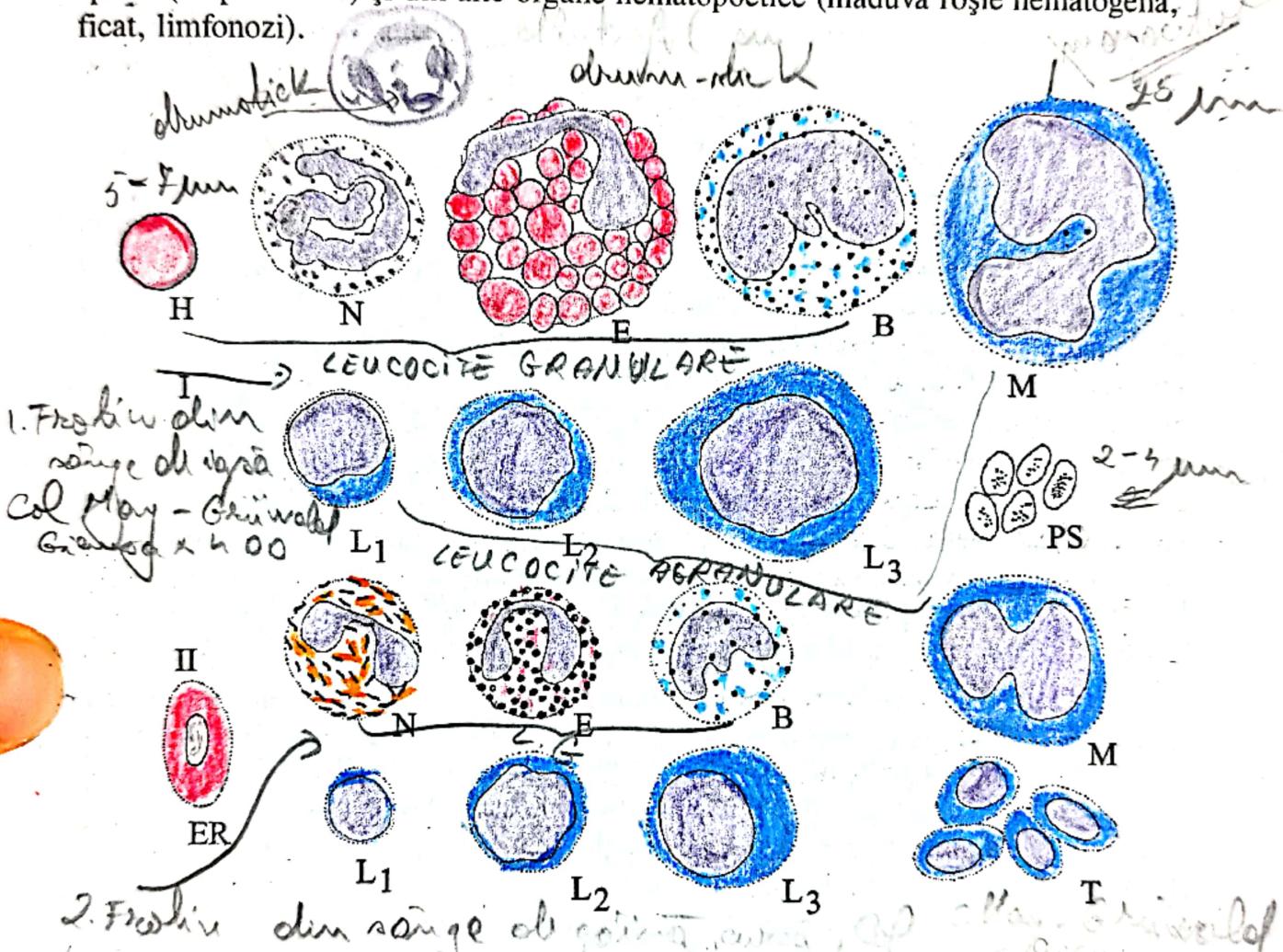


Fig. 3.1. ***Elementele figurate ale sângelui la cal (I); găină (II)*** : H-hematia ; ER-eritrocit ; N-neutrofil ; E-eozinofil ; B-bazofil ; L-limfocite ; (L_1-mic ; L_2-mijlociu ; L_3-mare) ; M-monocit ; PS-plachete sanguine ; T-trombocite.

În ontogeneză apar primele, ca o consecinţă stringentă a necesităţii de oxigen a ţesuturilor embrionare în plin proces de diferenţiere. La embrion se formează între a 12-19 –a zi (la embrionul de pasăre în a 12-a zi, de pisică în a 19-a zi). Sursa eritropoezei embrionare o constituie *celulele mezenchimale* din *insulele Wolff şi Pander*, concentrate în aria extraembrionară a sacului vitelin.

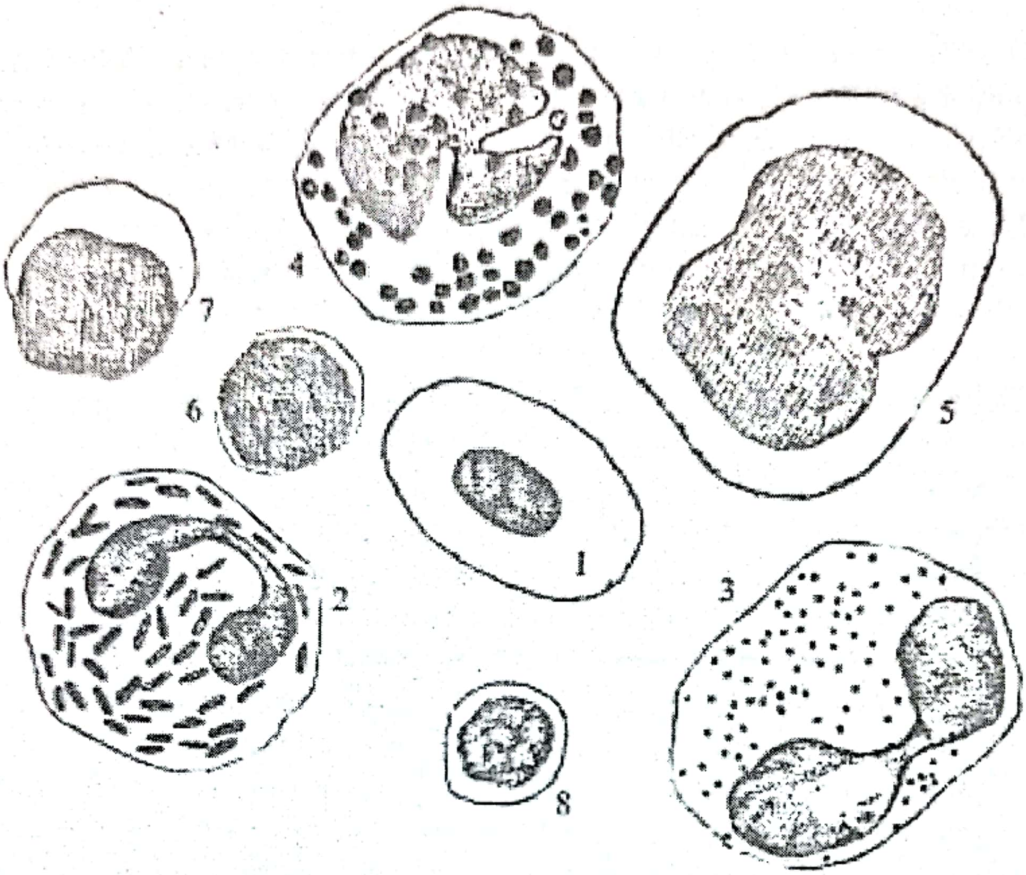


Fig. 3.2. ***Frotiu din sânge de curcă, col. May-Grünwald Giemsa*** : 1-eritrocit ; 2-heterofil ; 3-eozinofil ; 4-bazofil ; 5-monocit ; 6-limfocit mic ; 7-limfocit mijlociu ; 8-trombocit.

Eritropoeza este un proces continuu şi se desfăşoară concomitent cu *eritroclazia* (distrugerea eritrocitelor îmbătrânite). În eritroclazie se eliberează fierul care serveşte la sinteza „de novo" a hemoglobinei. Compartimentele de activitate ale eritrocitelor sunt ţesutul mieloid şi plasma.

Caracterele morfologice ale eritrocitelor. Forma lor la mamifer este de disc biconcav (fig. 3.3), exceptând cămila şi lama la care hematiile au formă elipsoidală. Forma de disc biconcav a hematiei reprezintă o perfectă adaptare la funcţia respiratorie, bazată pe difuziunea gazelor, deoarece sub această formă hematiile au suprafaţa cea mai mare la volumul cel mai redus. Din această formă rezultă o suprafaţă medie de 130 μm^2 (120-140 μm^2). La o serie de vertebrate inferioare au formă elipsoidală şi sunt nucleate. Factorii fizici, chimici, genetici, fiziologici şi patologici pot acţiona modificând forma, în sângele periferic apărând hematii sferice *(sferocite),* ovale *(ovalocite),* în formă de seceră *(drepanocite* sau *falciforme),* eritroblaşti (acidofili, bazofili, policromatofili), polimorfism denumit *poikilocitoză.*

Scanned with OKEN Scanner

Poikilocitoza blastică, imediat după parturiţie (respectiv ecloziune), este o manifestare normală. În sângele circulant pot apărea, de asemenea, eritrocite cu resturi de cromatină nucleară denumite *corpusculi Jolly* sau eritrocite la care s-a păstrat numai membrana nucleară, numite *inelele lui Cabot, corpii eritrocitari ai lui Heinz*, ce reprezintă o hemoglobină modificată.

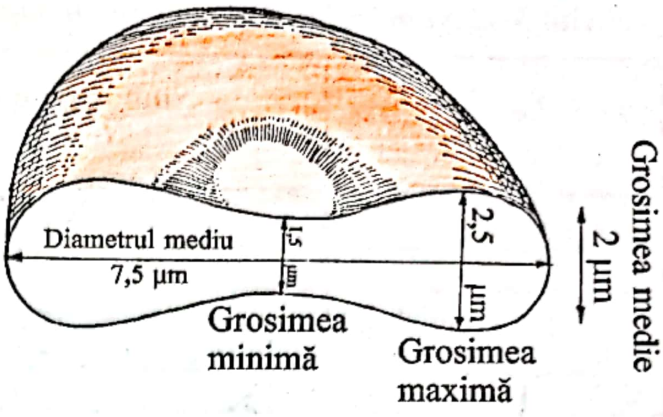


Fig. 3.3. ***Hematia la mamifere***

Culoarea normală a eritrocitelor este galbenă-portocalie. Pe frotiuri colorate cu metoda May-Grünwald-Giemsa eritrocitele se colorează în roşu-cărămiziu. Culoarea poate suferi modificări determinate de cantitatea de hemoglobină, stare numită *anizocromie.*

Dimensiunile eritrocitelor variază în raport de specie, de la 3,7 µm la capră până la 12,5 µm la găină. Variaţiile de mărime – *anizocitoza* – sunt marcate prin prezenţa în sângele circulant a *microcitelor* (eritrocite cu dimensiuni subnormale) sau a macrocitelor (eritrocite cu dimensiuni peste normal). Anizocitoza este rar întâlnită în stări normale, în schimb este frecventă în stările patologice. Astfel, în anemia pernicioasă se întâlnesc cele mai mari eritrocite – *megalocitele,* iar în anemia feriprivă cele mai mici – *microcitele.*

Numărul de globule roşii pe mm^3 de sânge în stări normale, la diferitele specii, este cuprins între 2-4 milioane la păsări, până la 11-17 milioane la capră. Cu cât dimensiunea este mai mică, cu atât numărul lor pe mm^3 de sânge este mai mare, şi invers. Variaţii numerice pot fi provocate de factori diferiţi, fiziologici şi patologici (sex, vârstă, alăptare, gestaţie, alimentaţie, unele afecţiuni ş.a.), care conduc la instalarea *eritrocitozei* (creşterea numărului de eritrocite pe mm^3 de sânge în stări normale) sau la *poliglobulia* patologică . Alţi factori (hemoragiile, alimentaţia carenţată, radiaţiile, intoxicaţiile etc.) provoacă *eritropenia* (în stare normală) sau *anemia* (în stare patologică – scădere sub numărul normal pe mm^3 de sânge). Numărul de eritrocite pe mm^3 sânge şi dimensiunea globulelor roşii sunt redate în tabelul 3.1.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3.1. *Numărul şi dimensiunea hematiilor (eritrocitelor) la diverse specii*

Specia	Număr pe mm^3 sânge (milioane)	Dimensiuni (μm)
Bovine	5 - 7	6,1
Ovine	8 - 13	5,0
Caprine	10 - 17	3,7
Suine	5 - 8	6,1
Cabaline	6 - 9	5,7
Iepure	5 - 7,9	6,5
Câine	5 - 8	7,3
Pisică	6 - 10	6,0
Elefant		8,4
Balenă		10.0
Om	4 - 5	7,5
Şobolan	6 - 9	6,5
Şoarece	7 - 11	6,5
Găină	2,6 - 3,7	12,5/7
Gâscă	2,8 - 4	13,0/6,5
Raţă	2 - 2,7	12,5/7

Durata de viaţă a eritrocitelor este de 120-180 zile.

Eritropoeza postnatală (posteclozională) se realizează în ţesutul mieloid din măduva hematogenă a oaselor plate, iar eritroclazia în elementele SMM din splină, ficat şi limfonozi.

Membrana hematiei este, în general, similară cu modelul plasmalemei, trilaminară conţinând în componenţa lipidică – fosfolipide, cerebrozide şi colesterol, iar între proteine, enzime de transport activ. Membrana este permeabilă pentru apă, molecule organice mici, ioni şi are capacitatea de a concentra, în prezenţa A.T.P. –ului, ionul de K şi de a pompa în afara sa Na. Glucoza, component esenţial al hematiilor, reprezintă principala sursă de energie necesară, atât menţinerii integrităţii morfofuncţionale a celulelor, cât şi pentru menţinerea hemoglobinei în stare redusă. Hematiile au un bogat echipament enzimatic reprezentat, în special, prin enzimele implicate în *glicoliză (glucozo-6 fosfat dehidrogenază, 6-fosfogluconic dehidrogenaza etc.)*.

Pe suprafaţa membranei au fost depistate complexe glucido-fosfolipidice, care determină genetic proprietăţile antigenice (aglutinogenice) ale membranei, pe baza cărora sunt clasificate *grupele sanguine* la animale. Deci suprafaţa membranei hematiei este un mozaic antigenic, unele din antigene au o valoare majoră, iar altele mai redusă, constituind particularităţi antigenice individuale. Varietatea antigenică a hematiei, cuprinsă în cadrul complex al „grupelor sanguine" reprezintă o parte din varietatea antigenică a organismului.

Scanned with OKEN Scanner

Hematia oferă un exemplu semnificativ de intervenţie a lizozomilor în liza localizată a organitelor celulare (*autofagia*). Organitele celulare în totalitatea lor sunt degradate prin intermediul autolizozomilor. În preparate proaspete, necolorate, hematiile apar de culoare galben-verzuie sau roşie datorită hemoglobinei şi cu dispoziţie în fişicuri. În frotiurile fixate şi colorate, prin metoda May-Grünwald Giemsa, hematiile se colorează în roz.

Compoziţia chimică a hematiei. Hematia este formată din: *apă* 60 %, *hemoglobină* 33-35 % şi *alte substanţe* 5-7 %. Reziduul uscat nehemoglobinic intră în cea mai mare parte în alcătuirea membranei sale. În constituţia hemoglobinei intră o proteină (*globina*) legată de un nucleu feruginos colorat (*hemocromogenul*), care este un compus *fier-porfirină*. Datorită fierului, hemocromogenul fixează labil O_2 devenind *oxihemoglobină*. Hemoglobina este deci factor major al respiraţiei. Oxihemoglobina este transportată de la capilarele pulmonare la ţesuturi. După eliberarea oxigenului, o parte din bioxidul de carbon tisular e preluat de hematii. Datorită unei enzime numită *anhidraza carbonică,* CO_2 este fixat de hemoglobină realizându-se *carbaminohemoglobina*.

Cu oxidul de carbon, hemoglobina realizează legături ireversibile *carboxihemoglobina,* care este incapabilă de a mai lega oxigenul. Dacă proporţia de carboxihemoglobină depăşeşte 60 % se produce moartea. Schimburile se fac prin intermediul plasmei sanguine. În condiţii normale, fiecare hematie conţine o cantitate determinată de hemoglobină, care constituie *valoarea globulară*. Durata de viaţă a eritrocitelor este de 120-180 zile. Zilnic sunt distruse şi înlocuite 0,8 % hematii. Ele se distrug şi sunt în majoritate fagocitate de către *macrofagele splinei* şi ale *sinusoidelor hepatice (celulele Kupffer)*.

3.2. Leucocitele

În preparatele proaspete de sânge leucocitele apar incolore (grec. *leucos* = alb), clare, sferice şi vizibile datorită refringenţei lor. Toate conţin nucleu, deci sunt adevărate celule. Ele reprezintă mişcări ameboidale, emit pseudopode prin care sunt capabile de a trece prin pereţii vaselor sanguine *(diapedeză)*.

În timp ce hematiile îşi petrec viaţa în curentul sanguin unde îşi exercită şi funcţiile şi numai în condiţii anormale sau după distrugerea lor se găsesc înafara vaselor sanguine, leucocitele rămân temporar în curentul sanguin şi îşi exercită funcţiile lor în ţesutul conjunctiv al diferitelor organe, unde sunt descrise ca celule *emigrate alogene (hematogene)*. Numărul şi dimensiunea lor variază în funcţie de specie, în medie 5000-11000/mm^3 de sânge la mamifere (un leucocit la 600 hematii). La păsări, numărul lor este mai mare (9000-30000/mm^3) (tabelul 3.2). Leucocitele diferă între ele prin dimensiune, forma nucleului, raportul nucleo/citoplasmatic şi prin afinitatea tinctorială a citoplasmei sau a granulelor din aceasta. Caracterele lor morfologice pot fi studiate pe frotiuri colorate după metoda May-Grünwald Giemsa.

Scanned with OKEN Scanner

Ele se împart în două grupe mari: *leucocite granulare* (polimorfonucleare sau granulocite) şi *leucocite agranulare* (mononucleare).

Leucocitele granulare se caracterizează prin prezenţa în citoplasmă a granulelor specifice, care după mărime, formă, afinitate tinctorială şi natura granulaţiilor se împart în trei grupe: *neutrofile*, *eozinofile (acidofile)* şi *bazofile*. Nucleul acestora are un polimorfism accentuat (de aceea se numesc şi polimorfonucleare) prezentându-se polilobat, segmentat şi în desagă (cu doi lobi). Leucocitele granulare iau naştere în măduva osoasă hematogenă.

Tabelul 3.2. ***Numărul de leucocite şi formula leucocitară la diferite specii***

Specia	Numărul pe mm^3 sânge (mii/mm^3)	Formula leucocitară (%)				
		Neutrofile	Eozinofile	Bazofile	Limfocite	Monocite
Bovine	5-10	25-40	3-8	0,5-1,5	40-70	4-10
Ovine	5-10	30-45	3-10	0,5-1	40-65	1-10
Caprine	7-16	30-45	3-8	0-1,5	45-65	3-5
Suine	10-15	40-60	2-6	0-3	40-50	0-5
Cabaline	7-10	50-60	3-6	0,5-1	30-40	1-6
Iepure	9-12	30-50	0,5-2	3-6	30-70	1-5
Câine	7-11	60-75	2-9	0,5-1,5	20-35	3-7
Pisică	10-15	50-80	2-8	0,5-1	20-50	5-6
Şobolan	5-25	16-36	1-4	–	62-75	1-6
Şoarece	7-15	20-50	0-5	0,5-1	65-80	3-7
Om	5-8	60-70	2-5	0,5-1	30	1-10
Găină	9-30	30-45	4-15	1-6	40-70	3-6
Gâscă	6-20	30-70	2-6	0,5-4	20-90	0-8
Raţă	20-24	30-40	4-12	0-5	42-59	2-7

3.2.1. Neutrofilul

Neutrofilele reprezintă cele mai numeroase leucocite, variind la mamifere între 25-70 % din leucocite. Creşterea numărului lor constituie *neutrofilia*, iar scăderea lor – *neutropenia*. Sunt sferice, cu diametrul de 10-12 μm. Nucleul se prezintă extrem de polimorf având între 2-5 lobi şi chiar mai mulţi, legaţi prin filamente de cromatină subţiri care uneori nu sunt vizibile şi dau falsa impresie a existenţei mai multor nuclei. Într-un procent redus (1-3 %) se găsesc leucocite cu nuclei nelobaţi (nesegmentaţi) în formă de bastonaş drept sau frânt asemănător unor litere U, V, Y, S, T, Z sau în formă de potcoavă, acestea reprezentând elementele incomplet mature,

Scanned with OKEN Scanner

a căror creştere numerică indică o incapacitate a măduvei osoase hematogene de a matura aceste leucocite. Drept criteriu de apreciere calitativă a neutrofilelor, sub aspectul nucleului, în privinţa segmentării lui, este *indicele lui Arneth (Arneth – Schilling)*. În funcţie de numărul de segmente nucleare Arneth împarte neutrofilele în cinci clase şi stabileşte existenţa unui raport diferit între numărul segmentelor nucleare şi vârsta celulei, considerând ştrangularea nucleului drept criteriu de clasificare. Ulterior, Schilling modifică această concepţie, considerând drept neutrofile segmentate, numai acele celule care prezintă fragmente nucleare, legate printr-un fir subţire de cromatină. Acelaşi autor precizează că importanţă prezintă nu numărul segmentelor nucleare, ci faptul că nucleul este sau nu segmentat. La femele un procent variabil de neutrofile prezintă un mic apendice ataşat la unul din lobii nucleului, de obicei la extremităţi, denumit *drum-stick* (băţ de tobă), care reprezintă *cromatina sexuală X (heterocromatina facultativă gonozomică X)*.

Citoplasma este încărcată cu granulaţii neutrofile (cu afinitate pentru coloranţi neutri) care se colorează în violet în coloraţia May Grünwald-Giemsa. La păsări, acestea se numesc *pseudoeozinofile (heterofile)* care conţin granulaţii în citoplasmă de aspect acicular care se colorează *acidofil*. Nucleul heterofilelor este format din doi lobi uniţi printr-un filament subţire de cromatină. Granulele neutrofilului au dimensiunea de 0,1-0,8 μm şi sunt de două tipuri : *granule azurofile sau primare* şi *granule specifice sau secundare*.

Granulele azurofile (primare), numeroase şi prezente în exclusivitate în primele etape de dezvoltare a neutrofilului la nivelul măduvei hematogene, începând de la stadiul de promielocit, se reduc treptat, pe măsura diferenţierii celulei şi trecerii ei în sângele periferic. Începând cu stadiul de mielocit apar treptat şi granule secundare specifice, astfel că în celulele diferenţiate, proporţia granulară este reprezentată prin *20 % granule azurofile* şi *80 % granule specifice*. Granulele azurofile sunt lizozomii din neutrofile. Ei conţin *hidrolaze acide* ca *fosfataza acidă, dezoxiribonucleaza acidă, beta-glucuronidaza, beta-galactozidaza, esteraza, lipaza* etc. Pe lângă acestea, granulele azurofile mai conţin *lizozim*, complex enzimatic cu rol de a hidroliza glicozidele din peretele bacteriilor, devenind astfel un agent bacteriostatic. Granulele azurofile mai conţin şi enzima *mieloperoxidaza*, care, acţionând asupra H_2O_2, eliberează şi activează O_2, devenind bactericide.

Granulele specifice (secundare) conţin *lizozim* şi *lactoferin*. Acesta este un complex enzimatic cu rol de a lega fierul circulant sustrăgându-l bacteriilor, care, în lipsa fierului, nu se vor mai putea dezvolta şi vor intra într-un ciclu involutiv. Granulele specifice mai conţin compuşi cationici bogaţi în arginină şi lizină, numiţi *fagocitine* (cu rol bacteriostatic), *fosfatază alcalină, iodizi, peroxizi, clorizi, acid lactic, acizi graşi şi lecitine* – toate având rol inhibitor asupra dezvoltării microorganismelor.

Membrana celulară este lipoproteică, acoperită de glicolemă, emite frecvent pseudopode bogate în microfilamente ce asigură migrarea celulei din sânge către şi prin ţesuturi (fig. 3.4).

Scanned with OKEN Scanner

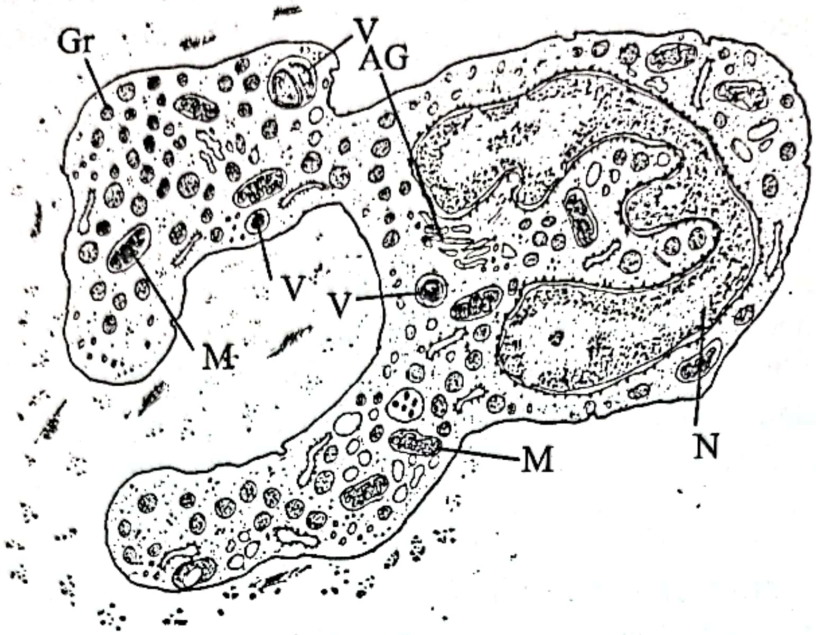


Fig. 3.4. ***Emiterea de pseudopode şi fagocitoza desfăşurată de neutrofil.*** Gr-granulă (lizozom); AG-aparat Golgi; M-mitocondrie; N-nucleu; V-vacuolă fagocitară.

Neutrofilele se formează în măduva osoasă hematogenă; trec apoi în sângele periferic, unde rămân până la 6-8 ore. După acest interval multe neutrofile trec în ţesuturi, în special în *ţesuturile conjunctive,* unde îşi desfăşoară activitatea ca *microfage.* Acestea fagocitează particule de talie mică, în general microorganisme *(bacterii, virusuri)* sau particule mici, inerte. Neutrofilele sunt primele leucocite care dau lupta cu microbii la locul de invazie a acestora.

În sângele periferic se află două grupuri de neutrofile, respectiv *neutrofile circulante* şi *marginale,* în proporţii aproximativ egale. Neutrofilele marginale se mişcă uşor alunecând de-a lungul endoteliului vascular, fără să adere de el decât rareori şi pentru scurt timp. În inflamaţii se intensifică marginaţia neutrofilelor care aderă la endoteliu, procesul fiind stimulat de diverşi factori chemotactici granulocitari. Procesul de aderare este urmat de *diapedeză* (traversarea peretelui vascular), prin *emitere de pseudopode* de către neutrofil. Neutrofilele sunt printre cele mai rapide celule în locomoţie, deoarece conţin aproximativ 10 % actină din totalul proteinelor din citoplasmă.

Ajunse în ţesuturi, ele migrează către locul de invazie microbiană în raport cu gradientele de stimuli chimici interceptaţi. Aceşti stimuli, sau *chemotaxine* pot fi: diferiţi metaboliţi bacterieni *(endotoxine), factori chemotactici limfocitari, leucotrieme, lipide oxidate, prostaglandine.*

3.2.2. Eozinofilul

Acestea sunt elemenetele cele mai mari din grupul leucocitelor granulare (10-15 μm), fiind mai puţin numeroase decât cele neutrofile cu o frecvenţă de 3-6 %

Scanned with OKEN Scanner

din totalul leucocitelor. Au un nucleu mare, de obicei format din doi lobi, numit *nucleu bilobat* sau în „*desagă*". Citoplasma este acidofilă şi are un conţinut bogat în granule sferice şi de aceeaşi mărime care se colorează în roşu. Mărimea, forma şi frecvenţa lor diferă de la specie la specie : la cal sunt foarte mari (2-4 μm), în timp ce la alte specii (oaie, bou, capră) sunt mai mici. La păsări granulele sunt sferice şi de dimensiuni mici.

Fiecare granulă este înconjurată de o endomembrană, iar cele mai mature prezintă în axul lor lung un *cristaloid electronodens*, numit *internum*, rezistent la liza osmotică şi conţine fosfolipide şi acizi graşi nesaturaţi. În granulă, zona ce înconjură cristaloidul, numită *externum sau matrice*, apare mai clară (fig. 3.5). Ea este foarte bogată în *fosfatază acidă*. Granulele eozinofilului mai pot conţine şi alte hidrolaze acide de tip lizozomal cum ar fi *glucuronidaze, catepsine, ribonucleaze, arilsulfataza*. *Mieloperoxidaza* se găseşte în cantitate mai mare decât în granulele azurofile din neutrofil.

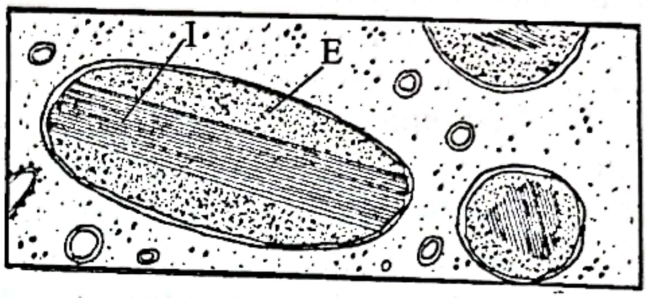


Fig. 3.5. ***Granule din citoplasma eozinofilului la ME*** : I-internum (cristaloid) ; E-externum (matrice)

Eozinofilul se formează în măduva osoasă hematogenă, care antrenat în sângele periferic rămâne câteva ore sau zile. Din sânge, eozinofilele trec în ţesuturi, devenind *eozinocite*. Acestea se localizează în special în mucoasele tubului digestiv, uterului şi în dermul pielii sau în alte ţesuturi, unde îşi desfăşoară activitatea şi apoi se distrug.

Eozinocitul are capacitate redusă de fagocitoză, dar mai selectivă pentru factorii bacterieni solubili, unele componente plasmatice, complexele antigen-anticorp, pe care le fagocitează cu formare de fagozomi în citoplasmă. După fuzionarea cu lizozomii, enzimele hidrolitice ale *externum*-ului distrug materialul endocitat. *Internum*-ul rămâne intact multă vreme în fagolizozom.

Funcţiile eosinofilelor. Ameboidismul, diapedeza şi *fagocitoza* (funcţiile comune leucocitelor) sunt mai puţin active decât la neutrofile. Funcţia principală a eosinofilelor este intervenţia lor prin substanţele cu efect *antihistaminic* pe care le elaborează în procesele alergice.

Prin complexele structurale lipoproteice, provoacă neutralizarea parţială a toxinelor produse de paraziţi, motiv pentru care, în parazitoze, se instalează *eozinofilia* (creşterea numerică). *Eozinopenia* se caracterizează prin scăderea numărului de eozinofile.

Granulocitul acidofil participă la modularea reacţiei inflamatorii, provocând diminuarea acesteia. Prezenţa masivă a acidofilelor este semnalată în plăgi în faza reparatorie, ca şi în unele inflamaţii comune când, prin fagocitoză, ele îndepărtează din plagă complexele imune ; prin fibrinoliză scad excesul de fibrină, iar prin eliberarea peroxidazei contracarează efectul histaminei, serotoninei şi bradichininei.

Scanned with OKEN Scanner

3.2.3. Bazofilul

Bazofilele sunt celule sferice, de 8-12 μm la mamifere şi 10-11 μm la păsări. Nucleul este neregulat, cu multe incizuri ; la unele specii este lobat. Citoplasma este bogată în granulaţii specifice răspândite neordonat, care se colorează bazofil sau metacromatic în violet, metacromazia fiind caracteristică pentru granulaţiile bazofilelor de pasăre.

Procentul de polimorfonucleare bazofile pentru 100 de leucocite este variabil în raport de specie, cuprins între 0,5-1 % (la mamifere), ajungând până la 3 % (la păsări).

Diametrul granulelor este de 0,1-1 μm. În unele bazofile granulele sunt răspândite pe toată aria citoplasmei, acoperind adeseori şi nucleul. În altele, granulele apar concentrate în ectoplasmă sau perinuclear. Ele sunt foarte sensibile, dispar repede în apă datorită *glicozaminoglicanilor acizi* pe care-i conţin. Granulele sunt delimitate de o endomembrană. În unele granule pot fi observate cristale fuziforme sau hexagonale în secţiune.

La bazofilele mamiferelor există două feluri de granulaţii : unele *mari,* altele *mici*. La păsări, bazofilele conţin numai granulaţii specifice mici. Chimic, la mamifere, granulaţiile mari conţin glicozoaminoglicani acizi dintre aceştia predomină *volutina* (acidul hialuronic). Granulaţiile mici conţin *heparină* (anticoagulant), *serotonina* (5-hidroxitriptamina, 5-HT), *histamina* (modificator al permeabilităţii capilare) şi *prostaglandine.*

Bazofilele iau naştere în măduva osoasă hematogenă, apoi sunt preluate în sânge, ca apoi la nivelul capilarelor să treacă în ţesuturi. Ele se deplasează în ţesuturi prin mişcări ameboide şi prezintă o capacitate redusă de fagie, devenind *mastocite* (vezi 2.2.1.8).

Acestea intervin în stări inflamatorii, stări de şoc, de stres, datorită substanţelor prezente în granulele specifice pe care le eliberează la contactul cu unii antigeni.

Polimorfonuclearul bazofil este angajat în hemostazie prin acţiunea anticoagulantă a heparinei şi vasodilatatorie a histaminei.

3.2.4. Monocitul

Monocitele sunt cele mai mari leucocite, cu diametrul de 15-25 μm, dar în număr redus de 5-8 %. Ele au o formă rotundă, dar de cele mai multe ori prezintă forme neregulate, cu pseudopode, când sunt în plină activitate şi traversează peretele capilarului sanguin. Nucleul este mare, excentric, cu forme variate (*reniform, ovoid, uşor lobulat* dând aspectul foliat la taurine şi ovine).

Citoplasma este abundentă, bazofilă şi conţine lizozomi, ribozomi şi polizomi, reticul endoplasmic rugos slab dezvoltat, mitocondrii mici alungite ; complexul Golgi este bine dezvoltat, microtubulii şi microfilamentele sunt numeroase. În citoplasmă mai apar frecvent şi resturi celulare pe cale de dezintegrare.

Scanned with OKEN Scanner

Monocitele se formează din *celula Stem* în măduva osoasă hematogenă şi în unele organe limfopoetice. Din compartimentul medular, monocitele trec în sânge, unde rămân 48-72 ore, apoi prin diapedeză ajung în ţesutul conjunctiv unde se transformă în macrofage tisulare (vezi 2.2.1.9) :

- *celula Kupffer* în ficat ;
- *osteoclast* în ţesutul osos ;
- *microglie* în ţesutul nervos ;
- *histiocite* în diferite ţesuturi,
- *macrofage* alveolare în pulmoni ;
- *celulele sinusoidale* din organele hematopoetice ;
- *macrofage* în seroase ;
- *celule adventiciale* ale vaselor sanguine.

Macrofagul poate avea în ţesuturi o viaţă de 20-100 zile. Aceste celule îmbătrânite sau în necrobioză sunt eliminate prin fagocitoză, desfăşurată de macrofagele active.

Membrana celulară este lipoproteică, mozaicată şi conţine glicoproteine la exterior. Ea prezintă numeroase microvilozităţi, vezicule de pinocitoză şi de micropinocitoză. Membrana emite frecvent pseudopode prin care monocitul se deplasează în afara vasului, dar mai încet decât granulocitul. Membrana monocitului, ca şi a macrofagului, forma sa activă, conţine receptori pentru IgG (subclasele IgG_1 şi IgG_3) şi pentru C_3 .

Există şi pentru chemotaxia macrofagelor factori umorali mediatori, dar mai puţin cunoscuţi decât pentru granulocite. Aceştia sunt reprezentaţi prin IgG, C_{5a} , sau prin molecule eliberate de limfocitele T (*limfokine*). Se presupune de asemenea că procesul de opsonizare a macrofagelor se desfăşoară asemănător cu cel al neutrofilelor.

Monocitele, respectiv macrofagele din ţesuturi, fagocitează în general particule de talie mare cum ar fi bacteriile, virusurile, complexele antigen-anticorp, materiale străine anorganice (fier, siliciu, praf) şi celule întregi sau resturi celulare (eritrocite).

Macrofagele fagocitează bacteriile mai încet decât neutrofilele, dar sunt mai eficiente în distrugerea lor, folosind în principal căile metabolice depedente de oxigen *(fosforilarea oxidativă)*. Pe măsură ce macrofagul se maturizează, în citoplasmă creşte şi numărul de lizozomi ce conţin *fosfataza acidă*, *beta-glucuronidază, lizozim, hialuronidază* şi alte *hidrolaze acide.* Aceşti lizozomi au un rol digestiv. De aceea macrofagele folosesc, pentru distrugerea particulelor endocitate, un sistem generator de H_2O_2, iar *catalaza,* care înlocuieşte *mieloperoxidaza* din stadiile celulare monocitare imature, va interveni asupra substratelor în prezenţa H_2O_2 ; la fel şi *peroxidarea lipidică* din macrofagele alveolare.

Un grup particular de macrofage este reprezentat de celulele ce fagocitează eritrocite. Aceste macrofage se întâlnesc în măduva hematogenă, în splină şi în ficat.

Scanned with OKEN Scanner

3.2.5. Limfocitul

Limfocitele sunt celule sferice cu dimensiuni variabile ce constituie un criteriu de clasificare a lor în : limfocite mici (6-8 μm), mijlocii (8-12 μm) şi mari (12-15 μm). În circulaţie predomină limfocitele mici şi mijlocii. Procentul lor în sânge este de 20-70 %, cu variaţii de la specie la specie, valoarea absolută fiind de 2000/mm^3. Creşterea numărului de limfocite poartă denumirea de *limfocitoză,* iar scăderea *limfocitopenie.* Ele au nucleul mare, sferic uneori cu o mică adâncitură. Întotdeauna *raportul nucleo/citoplasmatic* este în favoarea nucleului (acesta fiind la limfocitul mic de 0,8-0,9), fapt neobişnuit pentru o celulă matură reală. Nucleul este intens colorat şi prezintă un nucleol.

Citoplasma limfocitului este redusă la un inel perinuclear şi este bazofilă, asemănată cu *cerul senin.* În citoplasmă sunt prezente activităţi enzimatice, dintre care mai caracteristice sunt lipaza şi enzimele lizozomale. Citoplasma este intens bazofilă, formează un inel în jurul nucleului, iar la ME prezintă numeroşi ribozomi răspândiţi în citoplasmă, responsabili de sinteza proteinelor (anticorpilor). Citoplasma conţine mitocondrii de aspect variat, un reticul endoplasmic redus şi un aparat Golgi slab reprezentat.

Durata de viaţă în sângele periferic este diferită, de la câteva zile la un an, dar unele limfocite pot atinge vârsta de câţiva ani.

Limfocitele se deosebesc de toate celelalte leucocite prin capacitatea lor de recirculaţie şi de transformare blastică. Astfel, spre deosebire de leucocitele granulare din sectorul tisular periferic, care nu mai revin niciodată în sângele circulant, limfocitele au capacitatea de a reintra în circulaţie, continuându-şi ciclul lor vital. Pe de altă parte, tot spre deosebire de granulocite (celule specializate cu evoluţie unidirecţională spre îmbătrânire şi dezintegrare), limfocitele îndeosebi *cele mici,* îşi păstrează potenţialităţi de celule tinere, ele fiind capabile de transformare blastică (transformare în alte celule cu funcţii definite). Transformarea blastică este determinată de factori antigenici. Astfel limfocitul B se poate transforma în *plasmocit.*

Unele din aceste limfocite, după o intensă activitate locală, se distrug pe loc în ţesuturile conjunctive, altele sunt eliminate prin epiteliul mucoaselor unor organe (tub digestiv, aparat respirator, aparat urinar). O parte din limfocitele epuizate sunt fagocitate de macrofagele limfonozilor.

Alte limfocite însă sunt preluate de către capilarele limfatice şi, prin circulaţia limfatică, ajung din nou în circuitul sanguin. Ciclul reâncepe apoi dinspre sânge către ţesuturi, astfel că unele limfocite pot circula şi recircula de două-trei sau mai multe ori prin vasele sanguine. De obicei limfocitele B au viaţa mai scurtă, iar limfocitele T, viaţă mai lungă.

Limfocitele prezintă *mişcări de locomoţie* foarte active, la fel ca şi granulocitele. Ele au capacitatea de a recunoaşte proteinele proprii organismului în care se găsesc *(proteine self)* de proteinele străine ce pot fi introduse în organism *(proteine non-self),* împotriva cărora limfocitele B secretă anticorpi A, M, D, E ,G *(imunoglobuline),* iar limfocitele T secretă *limfokine.*

Scanned with OKEN Scanner

Adeseori se observă cum limfocitul se ataşează de o altă celulă (macrofag, celulă epitelială) pe care o înconjură ; este aşa-numitul proces de *peripolesis* şi în acest fel se fac schimburi de informaţii între celulele respective.

Alteori, limfocitul pătrunde în cealaltă celulă – *emperipolesis* - , cele două celule rămânând în simbioză. Se pot vedea astfel mitoze ale limfocitului în celulele hepatice.

Deşi relativ uniforme sub aspect citologic, limfocitele constituie din punct de vedere funcţional, o populaţie heterogenă, fiind reprezentate de limfocitele T şi B.

Originea acestor două populaţii limfocitare este la embrion *celula stem* CFU (*Colony Forming Unit*), de origine mezenchimală, ce se diferenţiază în aria *insulelor Wolff şi Pander*. La făt şi după parturiţie, originea limfocitelor este tot celula stem CFU din măduva hematogenă care migrează şi colonizează primordiile organelor limfoide centrale, respectiv *timusul* şi *bursa lui Fabricius* la păsări, sau echivalentele sale la mamifere (fig. 3.6). Unii autori prin experienţe efectuate pe iepure, au ajuns la concluzia că aceste echivalente îşi au sediul în cadrul ţesutului limfoid intestinal (*domul, plăcile Peyer*). Pe de altă parte, prin cercetări cu celule marcate şi prin ablaţia ţesutului limfoid intestinal, s-a demonstrat că măduva osoasă este atât sediul celulelor stem primordiale ale celor două populaţii principale de limfocite, cât şi a limfocitelor B, deci ea ar reprezenta echivalentul bursei lui Fabricius.

Datorită condiţiilor locale diferite şi particulare din timus, cât şi din bursa lui Fabricius, celulele stem precursoare, suferă o *proliferare antigeno-independentă* (în absenţa oricărui antigen), în parenchimul acestor organe limfoide primare şi se diferenţiază în *limfocite T şi B,* care sunt genetic programate ca să realizeze un răspuns imun specific, atunci când vor întâlni un anume antigen. Celulele stem din măduvă colonizează timusul, proliferează şi se diferenţiază în *limfocitele T (limfocite timodependente),* ce se deplasează spre zona medulară, de unde părăsesc organul şi circulă spre splină, aici are loc ultima fază a maturării, *antigeno-dependentă*. Apoi complet mature, circulă ca limfocite cu viaţă lungă prin splină, limfonozi şi alte organe limfoide secundare, unde devin *celule efectorii*.

Limfocitele B care iau naştere în bursa lui Fabricius la păsări, după colonizarea ei cu celule stem din măduva hematogenă, iar la mamifere formându-se din măduva hematogenă, sau după unii autori în echivalentele bursei de la mamifere, se maturează tot în splină, circulă şi recirculă în sânge, splină, limfonozi şi alte organe limfoide secundare, devenind *celule efectorii (plasmocite)*. Datorită acestei origini duble a populaţiilor limfocitare, *organele limfoide periferice* (limfonozii, splina, amigdalele şi ţesutul limfoid intestinal), vor fi formate atât din limfocitele T cât şi B (tabelul 3.3).

Diferenţierea limfocitelor T şi B nu este posibilă la MO sau la ME obişnuit, ci doar prin microscopia de baleiaj (*scanning microscopy*), prin care s-a remarcat că limfocitul T este mai mic (4,5 μm) şi posedă o suprafaţă relativ *netedă,* în timp ce limfocitul B este mai mare (5,8 μm) şi are numeroşi *microvili*.

Prin tehnici de imunofluorescenţă, pe suprafaţa limfocitului B s-au identificat receptori (Ig, F_C şi C_3), în timp ce limfocitul T este lipsit de aceşti receptori, sau eventual îi posedă în număr mic, în schimb este capabil să formeze *rozete eritrocitare* cu eritrocitele de oaie.

Scanned with OKEN Scanner

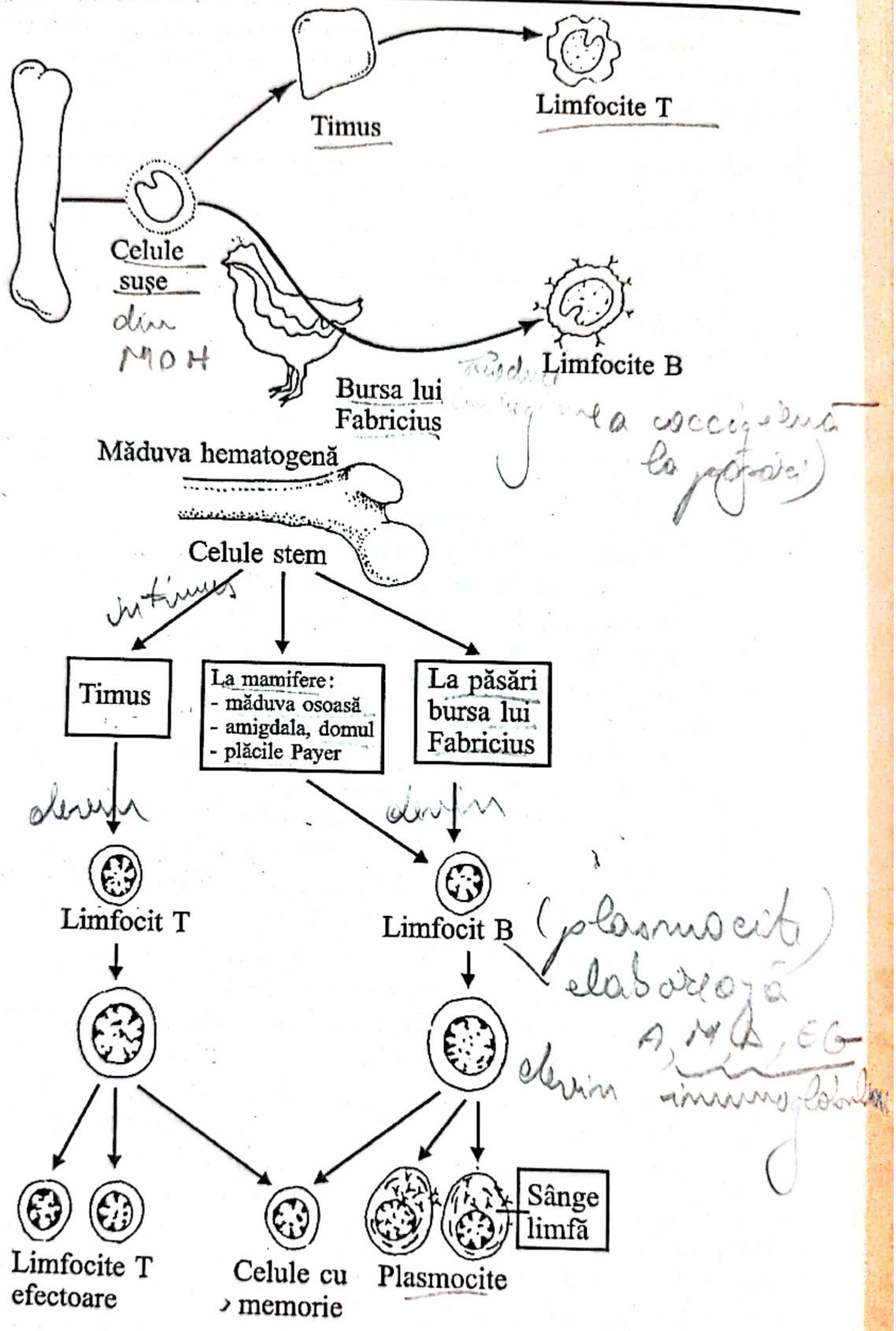


Fig. 3.6. ***Schema formării limfocitelor T şi B la mamifere şi păsări***

Tabelul 3.3. ***Structurile timo-dependente (L_T) şi burso-dependente (L_B) din structura organelor limfoide***

Organul	Zone timo-dependente	Zone burso-dependente
Limfonod	Zona paracorticală (corticala profundă)	Corticala foliculară-limfonoduli (corticala superficială)
Splina	Tecile limfoide periarteriale	Foliculii limfoizi splenici
Amigdalele	Zonele limfoide difuze subepiteliale şi interfoliculare	Foliculii limfoizi amigdalieni
Ţesut limfoid intestinal	Zonele limfoide difuze subepiteliale interfoliculare	Foliculii limfoizi intestinali

Atât celulele T, cât şi cele B, programate dar virgine, după colonizarea lor în organele limfoide periferice, pot veni în contact cu antigenul pentru care au fost programate şi suferă o *proliferare antigeno-dependentă*. În prezenţa antigenului specific, limfocitele T şi B se transformă blastic (suferă expansiune clonală), se multiplică şi se diferenţiază în celule imunocompetente (*imunoblaşti T* şi *B*).

Principalele caracteristici morfo-funcţionale ale limfocitelor B şi T sunt redate în tabelul 3.4.

Sub aspect morfofuncţional, limfocitele se împart în trei clase majore :

A. Limfocite B

B. Limfocite T
- limfocite T_h (helper, ajutătoare) ;
- limfocite T_a (amplificatoare) ;
- limfocite T_s (supresoare) ;
- limfocite T_{cs} (contrasupresoare) ;
- limfocite T_d (delayed = întârziat).

C. Limfocite citolitice, non-B /timo-independente
- Celule K
- Celulele NK

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 3.4. *Caracteristicile morfo-funcționale ale limfocitelor B și T*

Limfocite B (L_B)	Limfocite T (L_T)
- provin la păsări din bursa lui Fabricius, iar la mamifere din echivalente ale bursei (măduva osoasă hematogenă, amigdalele, domul, plăcile Peyer)	- provin din timus
- secretă anticorpi-imunoglobuline (A, M, D, E, G)	- secretă limfokine, interleukine
- sunt implicate în *imunitatea umorală*, imediată, declanșează imunitatea rapidă	- realizează *imunitatea celulară*
- pe suprafața L_B s-au identificat receptori (Ig, Fc, C_3)	- L_T este lipsit de acești receptori sau eventual îi posedă în număr mic
- este mai mare (5,8 μm) și membrana prezintă numeroși microvili	- este mai mic (4,5μm) și posedă foarte rari și mici microvili având o suprafață relativ netedă
- au o viață mai scurtă	- au o viață mai lungă - formează spontan rozete cu hematiile de oaie

3.2.5.1. Limfocitul B

Limfocitele B (burso-dependente; timo-independente) sunt implicate în *răspunsul imediat umoral primar.* Ele au rol important în realizarea imunității umorale a organismului. Anticorpii sintetizați sunt exocitați și depuși, fie la suprafața membranei limfocitului, fie trecuți în sânge. *Imunitatea umorală* sau *imediată* este realizată prin formarea *imunoglobulinelor* (A, M, D, E, G) de către *limfocitele B (plasmocite),* imunoglobuline sau anticorpi ce trec în sânge sau în lichidele extracelulare, declanșând o *imunitate rapidă*. Stimularea limfocitelor B, determinată de prezența antigenilor este ajutată de limfocitele T_h *(helper)* sau *ajutătoare,* ca și de macrofage. Acestea din urmă captează antigenul pe suprafața lor și-l fac mai imunogen. Macrofagele pot chiar fagocita unii antigeni, pe care după ce-i prelucrează în citoplasmă, în scopul sporirii puterii lor antigenice (de activare a limfocitelor), îi exocitează și-i cedează limfocitelor B. În cursul producerii anticorpilor de către celulele B efectoare, crește și numărul celulelor *cu memorie B.* Acestea nu se transformă în plasmocite, ci trec în circulație și la o nouă expunere la antigen se declanșează *răspunsul imun secundar.* Fiind al doilea contact cu antigenul, celulele cu memorie îl recunosc mai rapid și se transformă în imunoblaste, ce prezintă organitele implicate în sinteza anticorpilor, foarte dezvoltate (fig. 3.7).

Scanned with OKEN Scanner

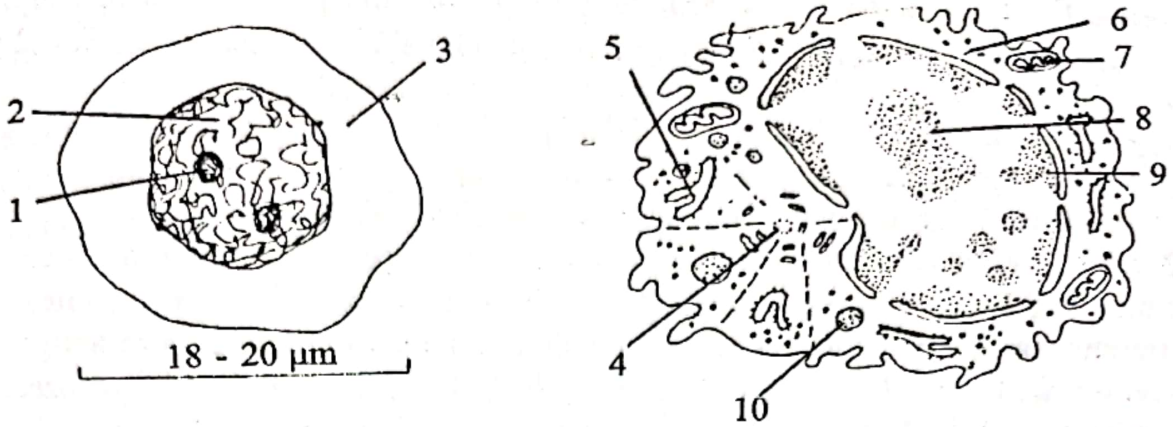


Fig. 3.7. ***Imunoblaste*** : 1-nucleolii dezvoltaţi şi vizibili ; 2-cromatina clară ; 3-citoplasma abundentă şi bazofilă ; La ME organitele sunt dezvoltate şi numeroase : 4-aparatul Golgi ; 5-RER ; 6-ribozomi liberi ; 7-mitocondrii ; 8-nucleolul foarte dezvoltat şi foarte vizibil ; 9-cromatina puţin abundentă şi dispersată ; 10-lizozomi.

Principalele organe în care se formează imunoglobuline de către limfocitele B sunt tubul digestiv, măduva hematogenă, medulara foliculilor limfoizi, splina, mucoasa bronhiilor, şi seroasele, în special cea peritoneală. După stimulare, imunoblastele trec în căile limfatice, apoi în sânge, pe care-l părăsesc spre a se localiza în apropierea focarului antigenic. Spre ex., imunoblastele limfonozilor mezenterici migrează preferenţial în lamina propria a mucoasei intestinale, unde elaborează imunoglobuline.

3.2.5.2. Limfocitul T

Limfocitele T (timo-dependente) sunt cele mai numeroase în sângele periferic, fiind activate de anumiţi antigeni, dar şi de unele substanţe mitogene ca *fitohemaglutinina* şi *concavalina A*. Interacţiunea dintre acestea şi limfocitele T este un proces specific, care determină activarea celulelor T, ce vor secreta *limfokine*. În procesul de activare se formează *clone de celule T* (generaţii de celule cu aceleaşi caracteristici morfologice şi funcţionale). Din aceste noi celule clonale, unele limfocite T vor acţiona prin secreţii de limfokine, iar altele vor redeveni *celule cu memorie,* circulante.

Limfocitele T sunt implicate în *răspunsul mediat celular,* în care antigenul (celule străine în cazul grefelor, celule canceroase, etc.) ajuns pe cale limfatică în limfonozi ia contact cu acestea. Ele se aglomerează în jurul celulelor străine, aderând la suprafaţa lor şi prin acţiune directă, citotoxică le distruge. Limfocitele T se împart în mai multe subtipuri funcţionale :

1. *Limfocite T reglatoare :*
   - T_h (*helper* sau *ajutătoare*), sunt cele mai importante, un adevărat pivot al sistemului imun, primesc semnalul de la antigen şi-l transmit limfocitelor B ;
   - T_a (*amplificatoare*), accentuează acţiunea limfocitelor T_h ;

Scanned with OKEN Scanner

- T_s (*supresoare*) acţionează inhibitor (supresor) prin feed-back asupra limfocitelor T_h, realizându-se o „balanţă clonală imunologică" $T_h/T_s \approx 2$ şi inhibă diferenţierea şi proliferarea *imunoblastelor ;*
- T_{cs} (*contrasupresoare*) au rolul de a pondera acţiunea poate exagerată la un moment dat a limfocitelor T_s ;
- T_d (*delayed* = întârzâiat) sunt cu acţiune întârzâiată.

2. *Limfocitele T efectoare (citolitice, citotoxice, ucigaşe, killer)* sunt limfocitele T cu markerii T_8. Ele distrug celulele străine după ce au fost stimulate (activate) de către antigenii de pe suprafaţa acestor celule străine, în special de către antigenii *complexului major de histocompatibilitate (MHC I)*. Limfocitele T citolitice realizează *imunitatea celulară,* responsabilă de instaurarea hipersensibilităţii întârziate, determinând eliminarea alogrefelor şi a celulelor tumorale. Sunt de asemenea responsabile de procesele de *autoimunitate*. În declanşarea răspunsului imun, limfocitele T cooperează cu macrofagele (vezi 2.2.1.9).

Limfocitele T secretă limfokine sau, în unele cazuri, *interleukine.*

Principalele limfokine sintetizate de limfocitele T :

- Factorul de inhibare a migrării- inhibă migrarea macrofagelor ;
- Factorul de inhibare leucocitar- inhibă migrarea neutrofilelor ;
- Factorul de activare a macrofagelor - stimulează activitatea citolitică a macrofagelor ;
- Interferoni gamma - stimulează activitatea citolitică a macrofagelor ;
- Factorul de stimulare a formării coloniilor - stimulează creşterea şi diferenţierea monocitelor în macrofage ;
- Factorul de activare a fibroblastelor - stimulează proliferarea fibroblastelor ;
- Interleukina-2 (factor de creştere a limfocitelor T) - stimulează creşterea şi activarea limfocitelor T;
- Interleukina-3 - stimulează creşterea şi diferenţierea monocitelor ;
- Factorul de creştere a limfocitelor B - stimulează creşterea şi diferenţierea limfocitelor B.

3.2.5.3. Limfocitul citolitic

Limfocitele citolitice non-B (timo-independente). Din această categorie fac parte *celulele K* şi *celulele NK.*

Celulele K sunt limfocite capabile să lizeze celule ai căror antigeni de suprafaţă sunt complexaţi cu anticorpi IgG, deci să distrugă celule învelite cu imunoglobuline.

Celulele NK sunt limfocite care au capacitatea să distrugă unele celule - ţintă, ai căror antigeni nu au fost aparent reţinuţi de sistemul imun. Aceste celule distrug uşor celulele tumorale şi celulele cultivate „in vitro". Ele realizează o protecţie a organismului împotriva celulelor canceroase.

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie, urmărind aspectele morfo-funcţionale ale leucocitelor, se poate constata că ţesutului sanguin îi sunt caracteristice trei compartimente: a) *compartimentul tisular central* reprezentat prin organele hematoformatoare, unde se găsesc celulele precursoare; b) *compartimentul circulant* sau sângele, prin care celulele mature sunt vehiculate în organism şi c) *compartimentul tisular periferic,* ce cuprinde celulele sanguine mature din ţesuturi, cu funcţiile specifice.

3.3. Plachetele sanguine (trombocitele)

Sunt celule nucleate (*trombocite*) la păsări, în timp ce la mamifere sunt fragmente de citoplasmă lipsite de nucleu (*plachete sanguine*). Dimensiunea lor la mamifere este de 2-5 μm, iar la păsări de 5-7 μm. Numărul lor variază în funcţie de specie, 15000-30000/mm^3, ajungând la ovine să atingă 97800/mm^3 sânge.

Creşterea numărului lor, denumită *trombocitoză,* ca şi scăderea numărului acestor celule sanguine, numită *trombocitopenie,* se observă în special în boli ale sângelui. În mod normal orice scădere a numărului de plachete circulante este imediat compensată de răspuns medular prompt.

Este *elipsoidă*, cu aspect de *lentilă biconvexă,* atunci când se află în stare proaspătă în vasele sanguine. Pe frotiu, celula prezintă forme diferite, *colţuroase* ca o stea, *discoidală, poligonală* etc., depinzând de gradul de uscare a frotiului şi de timpul ce s-a scurs între recoltarea sângelui şi efectuarea frotiului.

Plachetele sanguine se formează în măduva osoasă hematogenă din megakariocit. Acesta emite prelungiri care trec prin pasajele interendoteliale ale capilarelor sanguine, se fragmentează dând naştere la plachete, dintr-un megakariocit se formează 2000 plachete sanguine (fig. 3.8). Durata de viaţă a plachetelor este de 8-11 zile, fiind distruse mai ales în splină.

Membrana plachetei sanguine este lipoproteică, acoperită de un strat de glicoproteine gros de 15-20 nm, care permite absorbţia unor proteine plasmatice, în special *fibrinogen* şi *factorul 8,* jucând astfel un rol în interacţiunea dintre trombocit şi peretele vascular sau cu alte suprafeţe străine *(adeziune)* şi cu alte plachete *(agregare).*

Analiza glicolemei plachetei a evidenţiat existenţa a trei componente majore: *glicoproteina I, II şi III*, implicate în mecanismele de adezivitate la endoteliu vascular şi de agregare plachetară.

Membrana trombocitului prezintă mici văluri ondulante şi rare prelungiri digitiforme. De asemenea la nivelul ei pot fi observate frecvente invaginări sau buzunăraşe de pinocitoză al căror ansamblu constituie sistemul canalicular citoplasmatic, conectat la suprafaţa plachetei.

Citoplasma prezintă la examenul microscopic două zone: una externă, *ectoplasmică,* clară, numită *hialomer,* şi alta centrală, întunecată, numită *granular* (cromomer).

Hialomerul conţine: *microtubuli, microfilamente* şi *diferite proteine* implicate în procesul de *coagulare sanguină (trombostenina).*

Scanned with OKEN Scanner

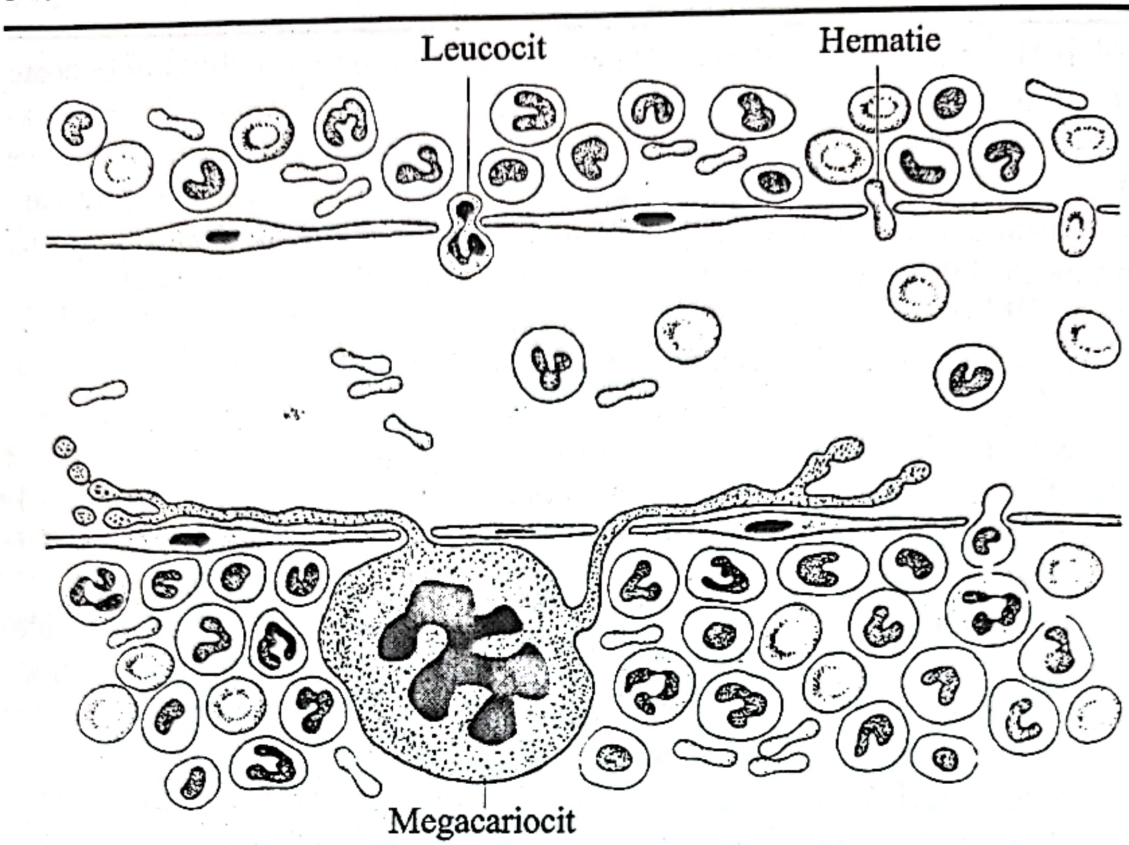


Fig. 3.8. ***Megakariocit care emite prelungiri ce trec prin pasajele interendoteliale ale capilarului sanguin.*** Fragmentarea acestor prelungiri pentru formarea plachetelor sanguine în lumenul capilarului *(Junqueira şi colab., 1998)*

Microtubulii sunt dispuşi sub formă de bandă inelară în ectoplasmă, unde formează citoscheletul ce menţine forma trombocitului. În procesul de agregare plachetară, unii microtubuli se strâng spre centrul citoplasmei înconjurând organitele celulare, alţii sunt prezenţi în vălurile trombocitului.

Microfilamentele, distribuite în toată citoplasma, sunt formate din proteine asemănătoare celulei musculare, respectiv *actină* 10 %, *miozină* 1 %, *tropomiozină* şi *troponină*. Actina este asemănătoare celei din celula musculară, dar miozina diferă de cea din celula musculară în ceea ce priveşte mărimea şi interacţiunea cu actina. Contracţia acestor proteine duce la modificarea formei trombocitului în procesul de secreţie plachetară şi în retracţia coagulului sanguin. De asemenea, se găsesc şi filamente de *trombostenină*. Microtubulii şi microfilamentele au rol în menţinerea formei discoidale a plachetelor şi facilitează formarea pseudopodelor în timpul mişcării şi adeziunii dintre ele.

Granulomerul, zona centrală electronodensă a trombocitului, este un ansamblu de *granule* şi *vacuole* de mărimi diferite (mici, mijlocii şi mari) şi cu densităţi diferite la fluxul de electroni (clare sau întunecate). El este alcătuit din (fig. 3.9) :

- 2-3 mitocondrii mici cu rare criste ;
- câţiva lizozomi, care apar în frotiu – granulaţii azurofile ;

Scanned with OKEN Scanner

- microvezicule ale aparatului Golgi ;
- elemente ale reticulului endoplasmic ;
- ribozomi liberi ;
- granule dense (*corpi denşi* ai trombocitului) cu dimensiunea de 0,5-1,5 nm, ce conţin *serotonină (5-hidroxitriptamină 5-HT), adeninnucleotizi nemetabolici, epinefrină (adrenalină), ioni de calciu.*

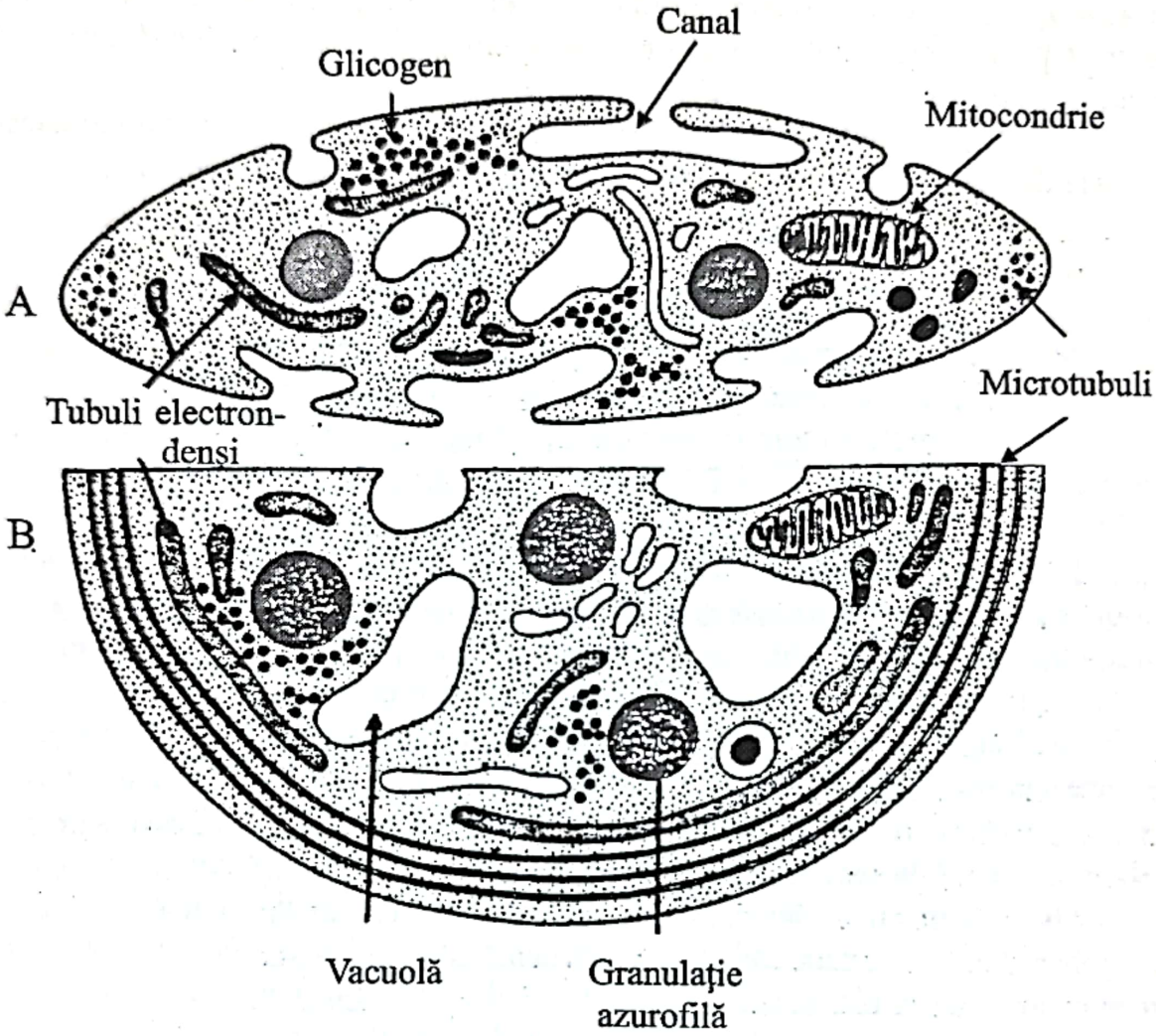


Fig. 3.9. ***Ultrastructura unei plachete – în secţiune transversală (A) şi în secţiune longitudinală (B)***

Funcţiile plachetelor sanguine. Deşi sunt elementele figurate cele mai mici ale sângelui, anucleate la mamifere, ele sunt considerate *„giganţi funcţionali”*, fiind foarte bogate în enzime: *nucleotidaze, peptidaze, fosfataza acidă* şi *alcalină*. Trombocitele conţin *glicogen, fosfolipide, serotonină* (preluată de la celulele argentafine ale epiteliului intestinal), *histamină, adrenalină, ioni de calciu*. De asemenea, conţin şi un număr foarte mare de factori care intervin în coagulare. *Deci, plachetele sanguine intervin în coagularea sângelui, prin capacitatea lor de agregare, de adezivitate şi de aglutinare.*

Scanned with OKEN Scanner

Agregarea este posibilă datorită energiei furnizate prin defosforilarea ADP în AMP (adenozin monofosfat). Se eliberează *factorul trombocitar (tromboplastină), serotonina* care este vasoconstrictoare şi *ionii de calciu*. Tromboplastina devine activă şi transformă *protrombina* în *trombină*, aceasta având rol în polimerizarea *fibrinogenului* în *fibrină*. Se formează *cheagul sanguin*, care apoi se retractă prin intervenţia *trombosteninei*, o proteină contractilă de la nivelul hialomerului. Fibrina formează o reţea, ce înglobează noi plachete, eritrocite şi leucocite. Apoi cheagul este lizat prin intermediul *plasminei*, care rezultă din *plasminogenul* activat de substanţe secretate de celulele endoteliale.

Astfel, plachetele sanguine menţin competenţa endoteliului. La galinacee, procesele de fagocitoză şi de pinocitoză ale trombocitelor sunt exacerbate.

4. ŢESUTUL MUSCULAR

Mişcarea, în formele ei variate şi complexe, este o însuşire esenţială a organismelor. Ea este, în principal, posibilă datorită proprietăţilor ţesutului muscular (grec. *mios* = muşchi; *sarcos* = carne), format din *celule (fibre musculare)*. Asocierea lor, cu participarea elementelor conjunctive, vasculare şi nervoase, constituie diferitele tipuri anatomice de *muşchi*.

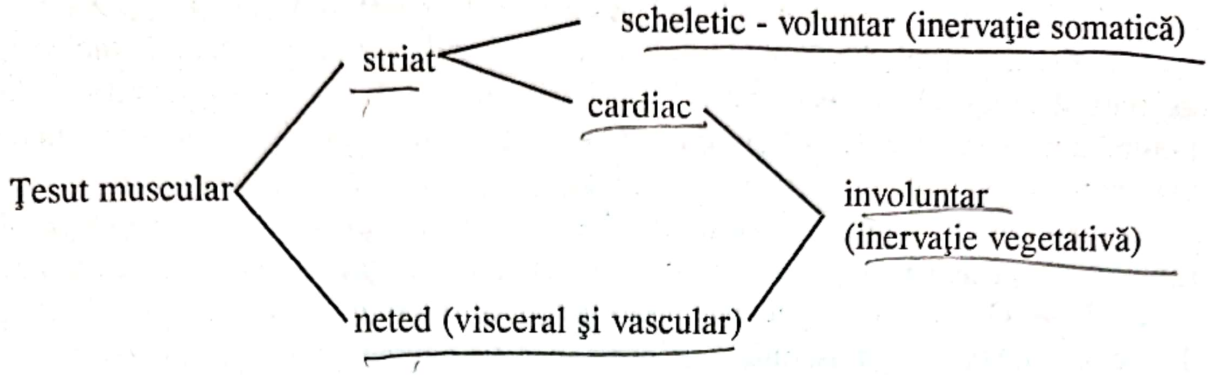
Fibrele musculare prezintă diferenţieri morfo-funcţionale care le fac apte să transforme, direct şi electiv, energia chimică a metaboliţilor în energie mecanică. Manifestarea exterioară a acesteia este *contracţia musculară* care, la rândul ei, este consecinţa proprietăţii de excitabilitate a elementelor musculare. Contracţia, însoţită de modificarea lungimii fibrelor musculare, dezvoltă întotdeauna la extremităţile acestora o tensiune mecanică ce se transmite altor organe sau formaţiuni învecinate, prin intermediul unor „dispozitive" conjunctive (*tendoane, aponevroze* etc.). În felul acesta, ţesutul muscular participă la o serie de manifestări vitale: locomoţia, circulaţia sanguină, mişcările respiratorii, motilitatea tubului digestiv, expulzia fătului din uter etc.

Structural, fibrele musculare sunt constituite din *membrana celulară (sarcolemă), unul* sau mai *mulţi nuclei* şi *citoplasmă (sarcoplasmă)* cu *organite celulare comune (aparatul Golgi, reticulul endoplasmic, ribozomii, lizozomii)* şi *„specifice" (miofibrilele)*, precum şi o serie de substanţe energetice (*glicogen, lipide* etc.).

Caracterul ultrastructural distinctiv al fibrelor musculare îl constituie prezenţa intracitoplasmatică a *miofibrilelor*, formaţiuni microscopice fibrilare formate din subunităţi numite *miofilamente*, constituite din proteine fibrilare contractile: *actină* şi *miozină*.

Există în organismul animal trei tipuri distincte de ţesut muscular, în care fibrele musculare se deosebesc prin particularităţi morfologice (formă, dimensiuni, numărul şi poziţia nucleilor), structurale (caracterul heterogen – fibre striate, sau omogen – fibre netede) şi funcţionale (contracţia voluntară, involuntară şi automată): 1) *ţesutul muscular striat scheletic*; 2) *ţesutul muscular striat cardiac*; 3) *ţesutul muscular neted*.

Scanned with OKEN Scanner



4.1. Histogeneza

Fibrele musculare striate de tip scheletic. Acestea se formează pe seama *mezoblastului* din zona dorso-laterală a somitelor, numită *dermomiotom.* Dermomiotoamele, dispuse metameric, se clivează într-o lamă externă, *lama dermală* (ale cărei celule vor forma dermul şi hipodermul) şi o lamă internă, numită *lama miotomală.* Iniţial, celulele lamelor miotomale au un aspect epiteloid, dar apoi treptat, prin diviziuni, se diferenţiază, iau o formă alungită, devenind *mioblaşti* (sau celule *musculare primitive*). Mioblaştii au nucleu mic, situat central; în citoplasma lor apar elemente fibrilare la început omogene, dar care cu timpul dobândesc un aspect striat. Mioblaştii se unesc şi formează fibra musculară striată scheletică *(rabdocitul),* considerată un *sinciţiu,* multinucleat. Consecinţa acestor multiplicări şi diferenţieri celulare este o extindere a lamelor miotomale în sens dorso-ventral şi scindarea lor într-o zonă dorsală sau *epimer* şi una ventrală sau *hipomer,* formaţiuni ce rămân unite printr-o lamă conjunctivă. Din epimere se vor forma muşchii proprii ai coloanei vertebrale, iar din hipomere musculatura toracelui, abdomenului şi cea a membrelor. Muşchii extremităţii cefalice provin din mezenchimul arcurilor branchiale, muşchii limbii din somitele occipitale, iar muşchii globilor oculari din somitele preoptice.

Până aproape de sfârşitul vieţii intrauterine, creşterea muşchilor se face prin formarea de noi fibre pe seama multiplicării şi fuzionării mioblaştilor (*sinciţiu*). După naştere, multiplicarea fibrelor musculare striate încetează, creşterea muşchilor fiind datorată doar îngroşării fibrelor existente.

Fibrele musculare striate de tip cardiac. Provin prin diferenţierea celulelor *mezenchimului splanchnopleurei* ce înconjoară tubul cardiac. O parte din aceste fibre musculare vor păstra mereu caracterele *miocardocitelor embrionare* şi vor constitui *ţesutul nodal.*

Fibrele musculare netede. Aflate în pereţii tubului digestiv, ai căilor urinare şi genitale, provin din *mezenchimul splanchnopleurei,* cele ale pereţilor vaselor din celulele mezenchimale ce dublează endoteliul vascular, iar pentru alte organe cavitare tot din celulele mezenchimale care migrează sub peretele epitelial al acestora.

Scanned with OKEN Scanner

4.2. Ţesutul muscular striat de tip scheletic

Este constituit din fibre musculare striate (*rabdocite*), grupate, *multinucleate*, de natură sincițială. Ele constituie unitățile morfo-funcționale specifice ale musculaturii somatice. Există fibre de acest tip și în unele porțiuni din pereții unor viscere: limbă, faringe, laringe, esofag etc.

Forma fibrelor musculare striate este cilindrică, având extremitățile în general rotunjite. Sunt deosebit de lungi: 1; 5, 12 cm; există mușchi în care pot atinge chiar 35 cm. Grosimea lor este cuprinsă între 20-100 μm, cu mari variații în funcție de specie, vârstă, sex, mușchiul considerat, poziția ocupată în mușchi, de starea de întreținere, antrenament (fig. 4.1).

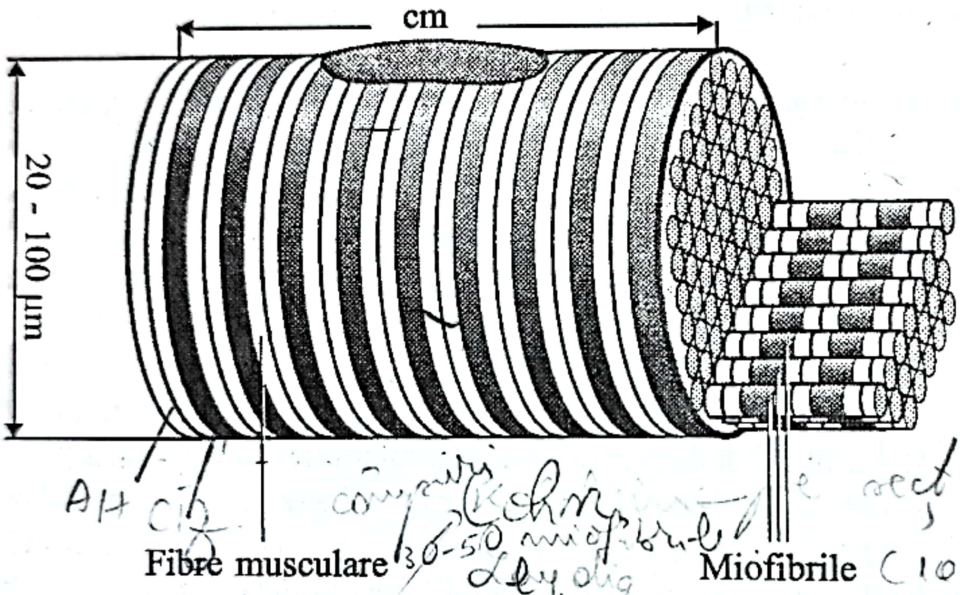


Fig. 4.1. ***Schema unui rabdocit***

Raportul dintre lungimea și grosimea fibrelor musculare striate este deosebit de mare și, practic, unic printre celulele din organismul animal.

Spre exemplu, la o fibră musculară scheletică cu lungimea de 10 cm și grosimea de 100 μm, ceea ce reprezintă limita superioară a grosimii fibrelor musculare scheletice, *raportul lungime/grosime este 1000/1*.

Culoarea roșie, caracteristică, a mușchilor somatici este datorată *mioglobinei*, precum și rețelei capilare sanguine deosebit de bogate (circa 2000 capilare pe 1 mm^2 de țesut muscular).

La microscopul optic, o fibră musculară striată apare constituită din *sarcolemă*, *nuclei* și *sarcoplasmă*, în care se găsesc *organite comune*, *incluziuni* și *organite specifice (miofibrilele)*.

Prefixul *„sarco"* (gr. = carne) este adesea folosit pentru a defini unele componente ale celulei musculare. Astfel: *sarcolema* este *membrana celulară* (plasmalema), *sarcozomii* sunt *mitocondriile*, *sarcoplasma* este *citoplasma*, *reticulul sarcoplasmic* este *reticulul endoplasmic*.

4.2. Ţesutul muscular striat de tip scheletic

Este constituit din fibre musculare striate (*rabdocite*), grupate, *multinucleate*, de natură sinciţială. Ele constituie unităţile morfo-funcţionale specifice ale musculaturii somatice. Există fibre de acest tip şi în unele porţiuni din pereţii unor viscere: limbă, faringe, laringe, esofag etc.

Forma fibrelor musculare striate este cilindrică, având extremităţile în general rotunjite. Sunt deosebit de lungi: 1; 5, 12 cm; există muşchi în care pot atinge chiar 35 cm. Grosimea lor este cuprinsă între 20-100 μm, cu mari variaţii în funcţie de specie, vârstă, sex, muşchiul considerat, poziţia ocupată în muşchi, de starea de întreţinere, antrenament (fig. 4.1).

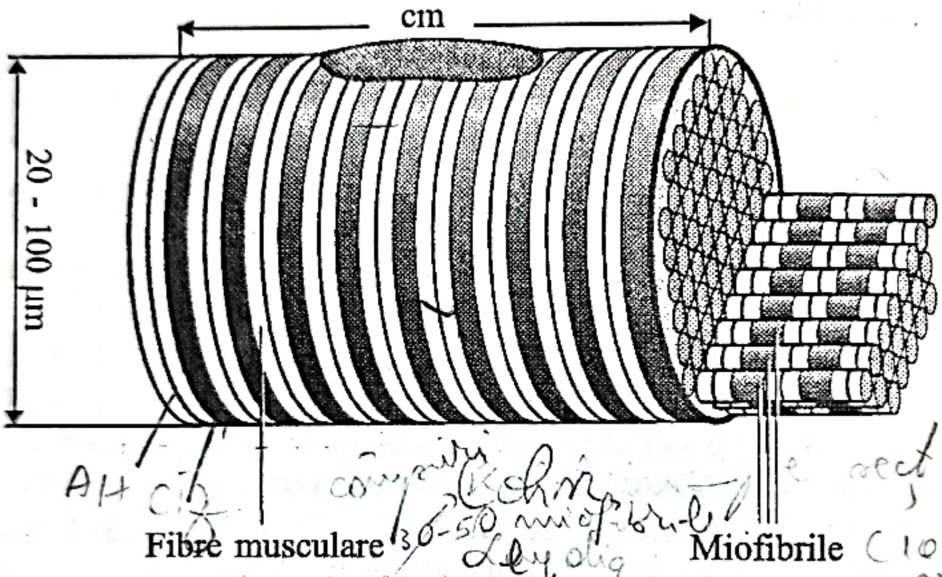


Fig. 4.1. ***Schema unui rabdocit***

Raportul dintre lungimea şi grosimea fibrelor musculare striate este deosebit de mare şi, practic, unic printre celulele din organismul animal.

Spre exemplu, la o fibră musculară scheletică cu lungimea de 10 cm şi grosimea de 100 μm, ceea ce reprezintă limita superioară a grosimii fibrelor musculare scheletice, *raportul lungime/grosime este 1000/1*.

Culoarea roşie, caracteristică, a muşchilor somatici este datorată *mioglobinei*, precum şi reţelei capilare sanguine deosebit de bogate (circa 2000 capilare pe 1 mm^2 de ţesut muscular).

La microscopul optic, o fibră musculară striată apare constituită din *sarcolemă*, *nuclei* şi *sarcoplasmă*, în care se găsesc *organite comune*, *incluziuni* şi *organite specifice (miofibrilele)*.

Prefixul *„sarco"* (gr. = carne) este adesea folosit pentru a defini unele componente ale celulei musculare. Astfel: *sarcolema* este *membrana celulară* (plasmalema), *sarcozomii* sunt *mitocondriile*, *sarcoplasma* este *citoplasma*, *reticulul sarcoplasmic* este *reticulul endoplasmic*.

4.2.1. Sarcolema

Iniţial, termenul de *sarcolemă* (introdus de Bowman în 1840) era folosit pentru a denumi învelişul fibrelor musculare. Microscopia electronică a evidenţiat însă faptul că acest înveliş are o ultrastructură complexă, în care se disting de la interior la exterior: a) *sarcolema propriu-zisă* (membrana celulară propriu-zisă), formată din *plasmalemă* cu *glicolemă*; b) *membrana bazală.*

Folosirea termenului de *membrană bazală* pentru fibrele musculare este din punct de vedere strict somatic incorectă, deoarece acestea nu au o bipolaritate funcţională ca cele epiteliale. Utilizarea acestui termen a intrat în histologie şi se menţine ca atare.

Membrana bazală este formată din trei componente:

a) *lamina rara* electronotransparentă, cu grosimea de 2-5 nm;
b) *lamina densa,* electronodensă, cu grosimea de 10 nm ce conţine colagen de tip V;
c) *lamina reticulară* conţine *fibre de reticulină* şi *glicozaminoglicani*, care se continuă cu *endomisium.*

4.2.1.1. Tubii T

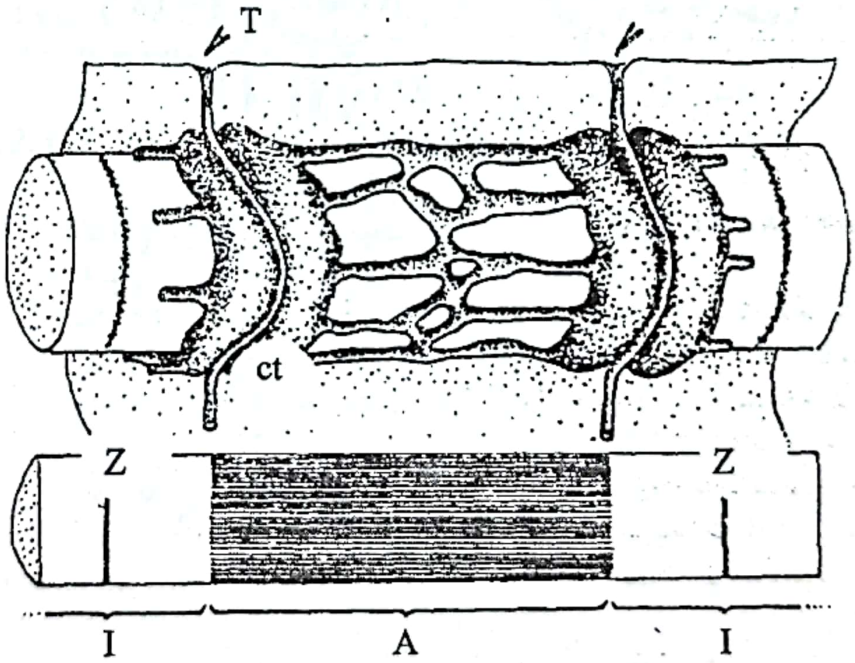


Fig. 4.2. ***Reprezentare schematică a unui fragment dintr-o fibră musculară scheletică de mamifer.*** Sarcolema şi miofibrilele sunt reprezentate secţionat, pentru claritate. Se remarcă următoarele: tubii T apar ca invaginaţii ale sarcolemei, la nivelul limitei dintre banda A şi banda I, ceea ce înseamnă câte un dublet de tubi T pentru fiecare sarcomer; tubii T sunt asociaţi strâns cu cisternele terminale (ct) ale reticulului sarcoplasmic, formând triade *(Diculescu şi colab., 1987)*

Scanned with OKEN Scanner

La mamifere, tubii T se formează din sarcolemă exact la nivelul corespunzător joncţiunii dintre *banda I* şi *banda A*. La acest nivel, sarcolema pătrunde în interiorul fibrei musculare scheletice, sub forma unor invaginaţii tubulare numite *tubi transverşi* sau *tubi T*. Denumirea provine de la faptul că direcţia acestor tubi este perpendiculară, cel puţin în segmentul lor iniţial, pe sarcolemă. Totalitatea tubilor T se denumeşte *sistem T* (*sistem tubular transvers*) (fig. 4.2). Rolul sistemului T este esenţial în declanşarea contracţiei *(cuplarea excitaţie-contracţie)*, prin conducerea potenţialului de acţiune de la suprafaţa fibrei (sarcolemă) în interiorul fibrei, până în vecinătatea *reticulului sarcoplasmic*, de unde se eliberează Ca^{2+} care declanşează contracţia (vezi 3.4.3.1).

Deşi tubii T erau reprezentaţi schematic ca simple invaginaţii rectilinii, microscopia electronică cu mare voltaj a demonstrat că sistemul T formează o adevărată reţea în interiorul fibrei musculare (fig. 4.3).

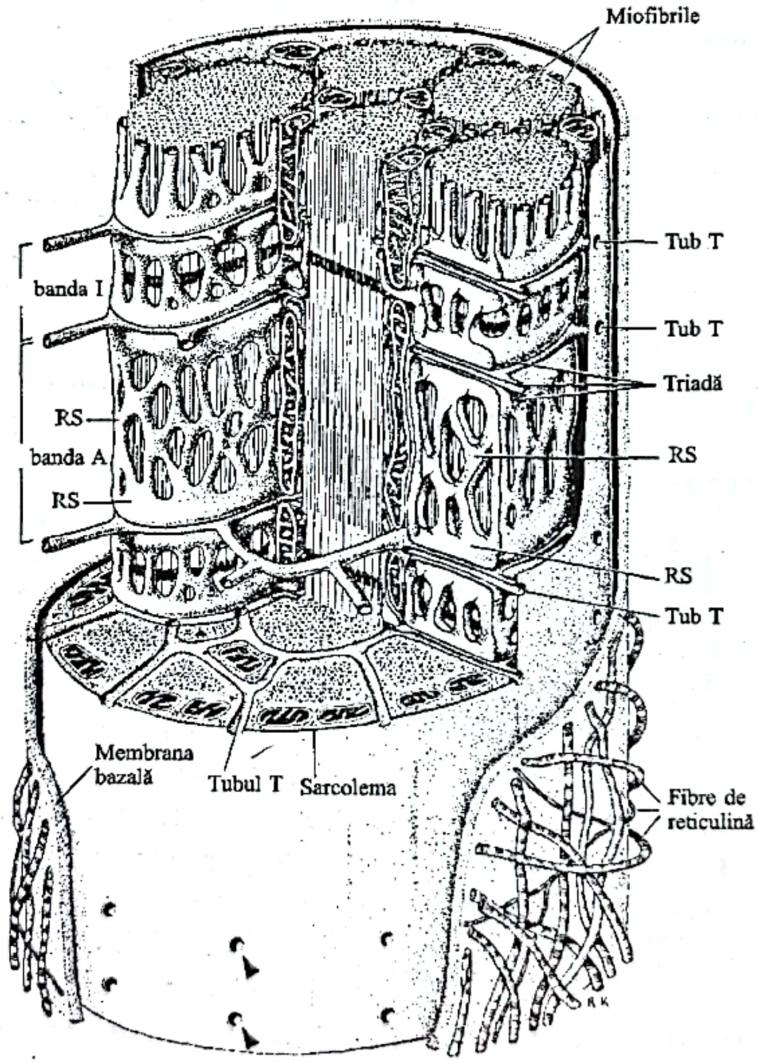


Fig. 4.3. ***Sistemul T apare la nivelul joncţiunii dintre banda I şi banda A.*** Tubii T se asociază cu cisternele terminale ale reticulului sarcoplasmic (RS) formând triade. În jurul sarcolemei se evidenţiază membrana bazală şi fibrele de reticulină *(Junqueira şi colab., 1998)*

Scanned with OKEN Scanner

4.2.2. Nucleii

Sunt ovoizi, uşor turtiţi, hipercromatici, cu 1-3 nucleoli, dispuşi periferic, imediat sub sarcolemă. Se apreciază, în medie 30-40 de nuclei pe 1 mm lungime de fibră, în corelaţie cu activitatea intensă şi continuă de autoreînnoire a proteinelor şi enzimelor musculare. Dimensiunea nucleilor este de 10/5 μm.

Trebuie remarcat faptul că, deşi fibra musculară scheletică are sute de nuclei, ei nu ocupă decât mai puţin de 1 % din volumul fibrei. Situaţia este un paradox total, volumul ocupat de aceşti nuclei din volumul total al fibrei este mult mai mic decât volumul ocupat de un nucleu obişnuit într-o celulă obişnuită (10-15 %).

O parte din nucleii vizibili la MO în periferia rabdocitului, nu aparţin acestuia, ci aşa numitelor *celule satelite.* Acestea sunt situate într-un spaţiu (depresiune) limitat, pe de o parte, de sarcolema fibrei musculare striate şi, pe de alta, de *membrana bazală.* În jurul celulei-satelite există un spaţiu electronotransparent de cca 15-20 nm. Celulele-satelite sunt repartizate relativ uniform de-a lungul fibrei musculare scheletice şi sunt fusiforme, dimensiunile lor obişnuite fiind 25 x 4 x 5 μm, cu axul mare orientat paralel cu cel al fibrelor musculare scheletice.

Fibrele musculare scheletice, fiind celule foarte diferenţiate, *nu se divid.* Totuşi, la o scară mică, procesul de regenerare poate fi realizat de *celulele-satelite,* care sunt progenitori reziduali ai fibrelor musculare scheletice, rămaşi în strânsă asociere cu ele. Celulele-satelite sunt slab diferenţiate şi capabile de diviziune, cu rol primordial în creşterea şi regenerarea muşchiului scheletic.

4.2.3. Sarcoplasma

Sarcoplasma reprezintă 20-30 % din masa fibrei, este semifluidă, omogenă ; în preparatele vitale apare fin granulară şi acidofilă, în cele colorate dispersată printre *miofibrile, organite comune* şi *incluziuni.* Organitele comune sunt reprezentate de *mitocondrii (sarcozomi), complexul Golgi, reticul endoplasmic neted (sarcoplasmic), lizozomi, reticul endoplasmic rugos* slab reprezentat. Dintre organitele specifice, cele mai dezvoltate sunt *microfilamentele de actină* şi *miozină,* care structurează la MO *miofibrilele.* Dintre organitele comune, *mitocondriile (sarcozomii)* sunt prezente în număr foarte mare, perinuclear şi printre miofibrile şi sunt cu atât mai numeroase, cu cât fibra musculară este mai activă.

Mitocondriile sunt numeroase în fibrele musculare scheletice, ceea ce apare de la sine înţeles, dacă ţinem seama de faptul că ele sunt principalii furnizori de ATP necesar contracţiei (fig. 4.4).

Aceste organite prezintă criste frecvente şi sunt dispuse în şiruri discontinue printre şi paralel cu miofibrilele. Majoritatea mitocondriilor intermiofibrilare sunt localizate la nivelul benzii I, adiacent striei Z.

Scanned with OKEN Scanner

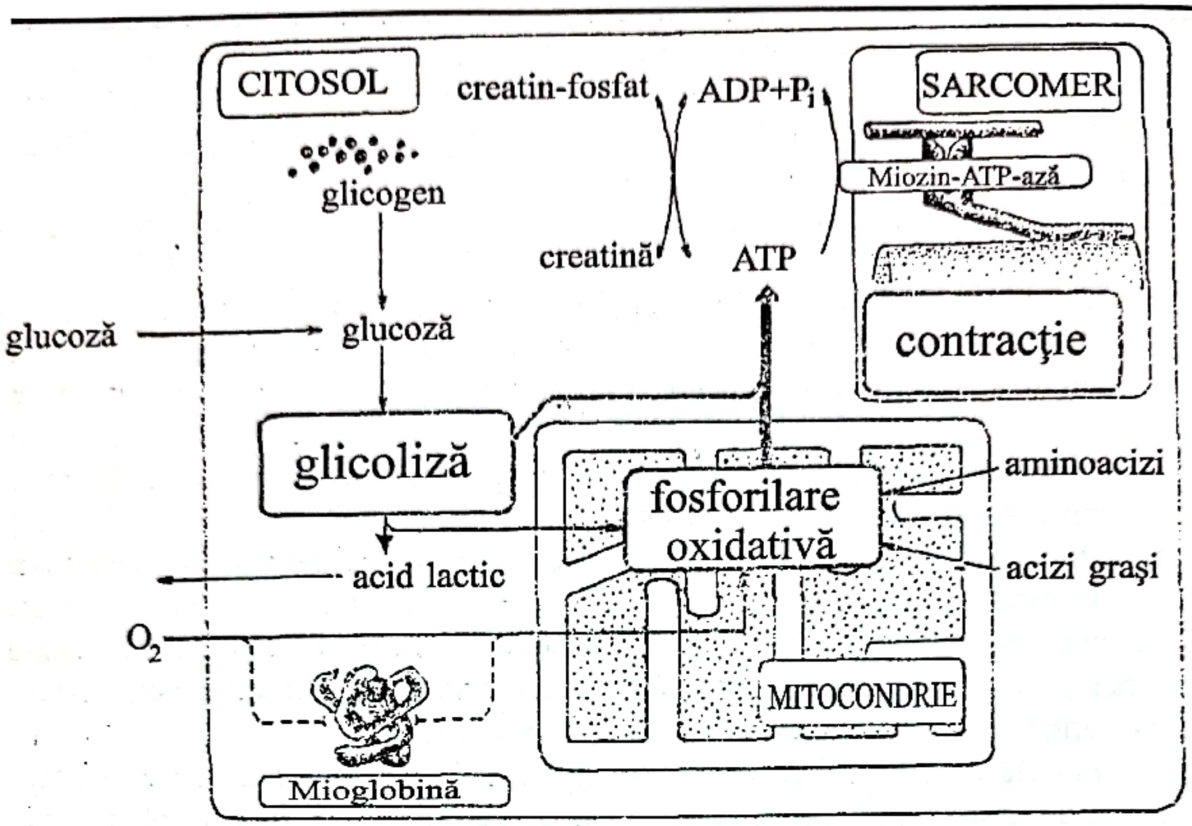


Fig. 4.4. ***Căile metabolice care produc energie (ATP) pentru contracţia muşchilor scheletici.*** În cazul unei activităţi musculare reduse, ATP-ul este produs aerob, grăsimile (acizii graşi) fiind combustibilul preferat. La eforturi musculare mai mari, glicoliza şi rezervele locale de glicogen devin principalele materiale utilizate.

În afară de localizarea preponderent intermiofibrilară, se mai găsesc mitocondrii şi periferic, sub sarcolemă, precum şi în vecinătatea polilor nucleari. În toate cazurile mitocondriile sunt orientate paralel cu axul longitudinal al fibrei.

În fibra musculară scheletică, *zona Golgi* este reprezentată de numeroase, dar mici, complexe Golgi, situate în vecinătatea nucleilor, la unul din polii nucleari. Diculescu, 1987, a prezentat dovezi ultracitochimice care sugerează că aparatul Golgi din fibrele musculare scheletice, ca şi în alte celule, este implicat în reciclarea membranelor (fluxul de endomembrane).

Lizozomii sunt observaţi *uzual juxtanuclear.* Fibrele musculare scheletice au cantităţi neglijabile de *reticul endoplasmic rugos,* ceea ce este în acord cu lipsa „exportului" de proteine din fibrele musculare scheletice.

Incluziuni sarcoplasmice. Granulele de *glicogen* apar electronomicroscopic ca particule cu diametrul de aproximativ 20 nm. Cea mai frecventă localizare a lor este intermiofibrilară, la nivelul benzii I. Se apreciază că glicogenul, ca rezervă glucidică energetică, ar putea reprezenta 0,5-3 % din greutatea muşchiului.

Scanned with OKEN Scanner

Lipidele, prezente în proporţie de 0,5-1,5 %, apar sferice, cu diametrul de 0,25 μm şi sunt aglomerate tot în vecinătatea mitocondriilor. Cantitativ, variază în funcţie de specie, vârstă, starea de întreţinere etc. În subnutriţie, lipidele sunt mobilizate şi utilizate ca sursă energetică.

Mioglobina este o cromoproteidă asemănătoare unei subunităţi din hemoglobină, cu care se înrudeşte structural şi funcţional. Este o proteină globulară, ce conţine un grup prostetic hem, identic cu cel din hemoglobină. *Mioglobina constituie un rezervor sarcoplasmic temporar de oxigen* deoarece, mioglobina, ca şi hemoglobina, este capabilă de oxigenare şi deoxigenare reversibilă, în funcţie de presiunea parţială a oxigenului. Mioglobina are o afinitate pentru oxigen mai mare decât hemoglobina. Se poate combina cu oxigenul la presiuni parţiale ale oxigenului mult mai mici ca în cazul hemoglobinei.

Prezenţa mioglobinei permite depozitarea temporară a oxigenului intracelular, oxigen care poate fi folosit în condiţiile ischemice din timpul contracţiei. Importanţa mioglobinei ca rezervor intracelular de oxigen este atestată şi de faptul că muşchii mamiferelor scufundătoare, care pot sta mai mult timp sub apă (foca, morsa, balena), au un conţinut foarte mare de mioglobină.

Mioglobina reţine oxigenul şi îl transferă enzimelor. Enzimele sarcoplasmice participă la glicoliză, respiraţie, transferul grupelor de fosfaţi, proteoliză, metabolizarea polizaharidelor şi lipidelor.

Matricea mai conţine: *lipoproteine, colesterol, glicogen* şi produşii lui de degradare, *vitamina C* şi *elemente minerale* (Ca, Mg, K, Na, P, Cl şi Fe). Acestea intervin în menţinerea presiunii osmotice pentru polarizarea electrică a sarcolemei, contracţiei musculare, ca activatori sau inhibitori ai activităţii enzimatice.

4.2.3.1. Reticulul sarcoplasmic de tip neted

Este deosebit de abundent (14 % din volumul fibrei) şi constituit din două componente distincte: *a) sistemul longitudinal* (sistemul – L), format din tubi cu diametrul de 20-30 nm, orientaţi paralel şi de jur-împrejurul miofibrilelor. Între tubii învecinaţi se stabilesc anastomoze, mai ales în dreptul zonei H din discurile A şi a striei Z din discurile I. În imediata vecinătate a joncţiunii dintre discul A şi I, toţii tubii L corespunzători unui disc A sau I confluează într-o cisternă terminală cu diametrul de 100 nm orientată transversal, astfel că fiecare joncţiune A-I va fi flancată pe ambele laturi de două cisterne terminale aparţinând tot sistemului-L. Structura electronomicroscopică este redată în fig. 4.2 şi 4.3; *b) sistemul transversal* (sistemul-T) (vezi 4.2.1.1) este dependent de plasmalema fibrei musculare care, în dreptul joncţiunilor dintre discurile A şi I, prezintă o serie de invaginări cu diametrul de 30 nm orientate transversal şi intercalate între două cisterne terminale învecinate. Tubii-T, la suprafaţa fibrei, comunică cu spaţiul pericelular. În interiorul fibrei prezintă numeroase ramificaţii ce se anastomozează transversal, formând o reţea în formă de fagure ce cuprinde în ochiurile ei toate miofibrilele din dreptul fiecărei joncţiuni

Scanned with OKEN Scanner

dintre discurile A şi I. Între tubii sistemului-T şi cei ai sistemului-L raporturile sunt de contiguitate. Din această dispoziţie a sistemului L şi T rezultă formaţiuni particulare la nivelul fiecărei joncţiuni dintre discurile A şi I, numite *triade,* din structura cărora face parte *un tub T* intercalat între *două cisterne terminale ale sistemului L* (v. fig. 4.2). În fibrele musculare cu contracţie rapidă (*fibre „albe"*), triadele sunt prezente şi în dreptul membranelor Z. În conţinutul reticulului sarcoplasmic s-au evidenţiat cantităţi crescute de ioni de calciu. Prin sistemul T, reticulul asigură transmiterea undei de depolarizare de la sarcolemă în toată masa fibrei, iar prin sistemul L (care are capacitatea de reţinere şi eliberare a calciului), reglarea stării de contracţie sau relaxare a sistemului miofibrilar. De asemenea, reticulul asigură *cuplarea excitaţiei cu contracţia*, funcţia de sinteză fiind secundară.

Termenul cuplare excitaţie-contracţie se referă la mecanismul prin care impulsul electric de la nivelul sarcolemei produce contracţia miofibrilelor din interiorul fibrei. Rolurile esenţiale în realizarea cuplării excitaţie-contracţie revin sistemului T şi reticulului sarcoplasmic. Secvenţa de fenomene care au loc în cursul cuplării excitaţie-contracţie este următoarea :

- sistemul T conduce potenţialul de acţiune de la nivelul sarcolemei adânc în interiorul fibrei musculare până în vecinătatea reticulului sarcoplasmic care înconjură miofibrilele ;
- ca urmare a semnalului primit de reticulul sarcoplasmic de la tubii T, ionii de Ca^{2+} depozitaţi în interiorul reticulului sarcoplasmic sunt eliberaţi prin canalele de Ca^{2+} ale membranei reticulului sarcoplasmic în sarcoplasmă ;
- declanşarea contracţiei ca urmare a creşterii concentraţiei sarcoplasmice a ionilor de Ca^{2+} liberi de la 10^{-7} M la 10^{-6} M, sau chiar 10^{-5} M, prin intermediul proteinei receptor pentru Ca^{2+}, *troponina C,* fiecare polipeptid fixează patru ioni de Ca^{2+} ;
- reacumularea ionilor de Ca^{2+} în reticulul sarcoplasmic prin intervenţia pompei de Ca^{2+} (Ca^{2+}- ATP-aza), din membrana reticulului sarcoplasmic, care acumulează Ca^{2+} în interiorul reticulului sarcoplasmic, scăzând astfel concentraţia sarcoplasmică de Ca^{2+} şi implicit producând din nou relaxarea.

4.2.3.2. Miofibrilele (rabdofibrilele)

Miofibrilele constituie substratul contractil al fibrei musculare scheletice şi reprezintă 60-65 % din masa acesteia. Sunt structuri fibrilare cu diametrul de 0,5-2 μm, orientate paralel cu axul mare al fibrei. De obicei, sunt grupate (înmănuncheate) câte 30-50 miofibrile la un loc (*colonetele Leydig* apar în secţiune longitudinală, iar *câmpurile Cohnheim*, în secţiune transversală).

Numărul miofibrilelor este evaluat la aproximativ 1000 într-o fibră. Atât în preparate colorate, cât şi în cele proaspete, examinate în lumină polarizată, miofibrilele apar cu o structură periodică, adică prezentând pe traseul lor o succesiune regulată de zone sau *discuri clare* 0,8-1 μm (I), izotrope, monorefringente, alternând cu

Scanned with OKEN Scanner

discuri întunecate 1,5 μm (A), anizotrope, birefringente. În aceeaşi fibră musculară discurile clare şi cele întunecate se află alăturate aproximativ la acelaşi nivel, fapt ce conferă fibrei în ansamblu, o striaţie transversală caracteristică.

Pe coloraţiile cu hematoxilină ferică structura discurilor apare mai complexă : fiecare disc I este împărţit transversal în două semidiscuri de o membrană întunecoasă, *stria Z* (germ. *zwischen* = între), iar cele întunecate de o membrană clară – *stria H (Hensen)*. Membrana Z se extinde şi în sarcoplasma interfibrilară, contribuind la solidarizarea şi alinierea miofibrilelor.

Prin centrul zonei H trece o membrană îngustă de 75 nm şi întunecată numită *membrana M* (germ. *mittellinie* = linie de mijloc). Microfilamentele de miozină sunt fixate la nivelul membranei M. Această membrană pe microfotografii electronice apare ca o zonă de opacitate mare la fluxul de electroni cu 3-4-5 striaţii paralele între ele, dar perpendiculare pe filamentele groase şi despărţite prin intervale de 20 nm. Aspectul striat se datoreşte prezenţei unor *„punţi m"* groase de 4 nm, care leagă filamentele groase de miozină între ele în sens transversal, realizând pe secţiuni transversale adevărate desene hexagonale.

O structură atât de solidă în care se stabilesc multiple conexiuni rigide, sugerează că banda M reprezintă o zonă specializată a sarcomerului în vederea menţinerii filamentelor groase de miozină în poziţie centrală şi totodată realizează menţinerea poziţiilor relative a acestora.

Unitatea structural-funcţională a miofibrilei, *sarcomerul,* este reprezentată de segmentul miofibrilar cuprins între două membrane Z, adică de *un disc A flancat la ambele extremităţi de câte un semidisc I.* Lungimea sarcomerelor într-o fibră musculară în stare de relaxare este de aproximativ 2,5 μm.

Miofibrilele, la microscopul electronic, apar formate din *microfilamente* – subunităţi fibrilare discontinue, paralele între ele şi cu axul miofibrilei. Microfilamentele sunt formate din *macromolecule proteice fibrilare* contractile (90-95 %) şi *proteine reglatoare* (5-10 %). Proteinele miofibrilare reprezintă 80 % din proteinele musculare.

Proteinele contractile : miozina (M) este o macromoleculă dublu helicoidală, în formă de bastonaş, terminată la o extremitate printr-o formaţiune globulară. Este formată din două componente (*mero-miozine*), clasificate, după viteza de sedimentare, în *meromiozină uşoară* (LMM) şi *meromiozină grea* (HMM). LMM deţine proprietatea de autoagregare a miozinei sub formă de microfilamente groase ; HMM formează partea globulară a moleculei de miozină (*subfragmentul* S_1) şi are proprietate ATP-azică (activată de ionii de Ca^{2+}) şi proprietatea de a forma cu actina un complex – *actomiozina (AM)* – componenta esenţială a contracţiei musculare. Actomiozina este disociabilă, în prezenţa ATP, în cele două unităţi ; *actina (A)* există sub două forme moleculare : forma *globulară (GA)* şi forma *fibrilară (FA),* rezultată prin polimerizarea moleculelor de GA. Cele două forme, în timpul contracţiei, trec în mod reversibil una în cealaltă. Numai actina fibrilară are capacitatea de interacţiune cu miozina.

Scanned with OKEN Scanner

Proteinele reglatoare principale sunt: *tropomiozina* (fibrilară), *troponina* (globulară), *alfa-* şi *beta-actina*. Se admite că tropomiozina şi troponina împiedică interacţiunea actinei cu miozina, în absenţa calciului; alfa-actina favorizează formarea, prin polimerizare, a actinei fibrilare, iar beta-actina acţionează antagonist.

Prin asamblarea ordonată a acestor tipuri de proteine miofibrilare se constituie două feluri de microfilamente (fig. 4.5) care diferă prin grosime, lungime, compoziţie chimică şi poziţia ocupată în sarcomer, numite microfilamente subţiri, respectiv groase: *microfilamentele subţiri,* lungi de 2 μm, groase de 6 nm, constituite preponderent din actină (600 molecule într-un microfilament) şi inserate printr-o extremitate pe membrana Z, parcurg întregul disc I, pătrund printre filamentele groase în discul A, până la limita zonei H; *microfilamentele groase,* lungi de 1,5 μm, groase de 10 nm, sunt constituite fiecare din aproximativ 200-500 molecule de miozină. Sunt paralele, localizate strict numai în discul A, intercalându-se, pe o anumită distanţă, cu microfilamentele subţiri. Axa microfilamentelor groase este formată din componentele LMM, iar suprafaţa este structurată din componentele HMM ale moleculelor de miozină. Raportul ponderal dintre filamentele de miozină şi cele de actină este de 1/2.

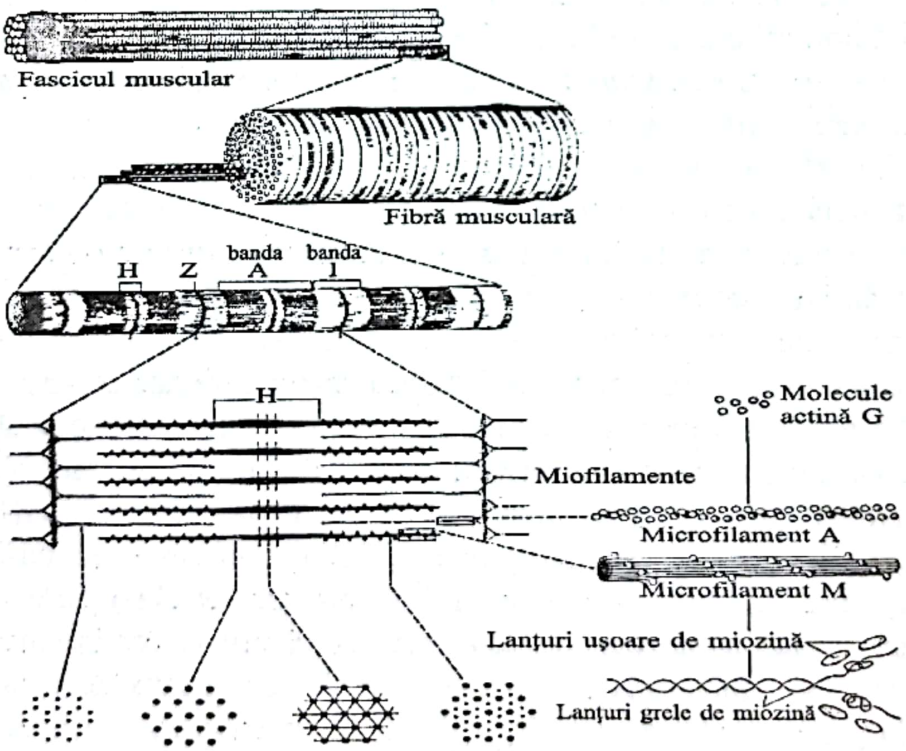


Fig. 4.5. ***Structura şi poziţia microfilamentelor de actină şi miozină în sarcomer*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Scanned with OKEN Scanner

Microfilamentele de actină conţin proteinele reglatoare : *tropomiozina* care corespunde la 7 monomeri de actină şi *troponina C* formată din trei polipeptide (C, T, I) (fig. 4.6).

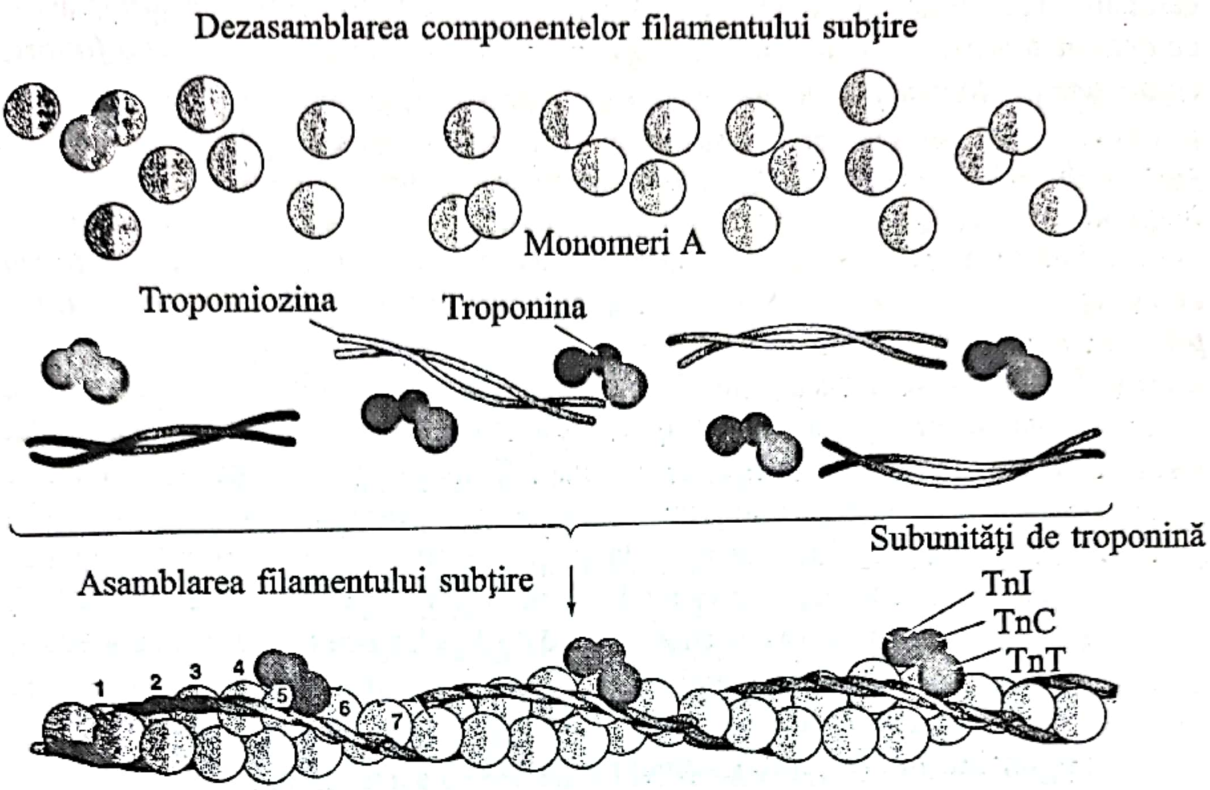


Fig. 4.6. ***Reprezentarea schematică a asamblării microfilamentelor de actină*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Aceste trei polipeptide sunt :

- *troponina C*, care leagă specific ionii de calciu, (fiecare polipeptid leagă patru ioni de Ca^{2+}). Legarea ionilor de calciu de troponina C este semnalul declanşator al contracţiei fibrei musculare striate ;
- *troponina T,* care are o mare afinitate pentru tropomiozină de care se leagă ;
- *troponina I,* care cooperează cu celelalte două troponine pentru a menţine tropomiozina în poziţia de blocare a interacţiunii miozină-actină.

Pe baza unor criterii structurale, biochimice, histoenzimatice şi fiziologice, există două tipuri de fibre : *fibrele de tipul I (T_1)* corespund *fibrelor „roşii"* şi *fibrele de tipul II (T_2)* ce corespund *fibrelor „albe"*, din clasificarea clasică.

Fibrele de tip I (T_1), structural, se caracterizează prin sarcoplasmă abundentă, bogată în mioglobină, mitocondrii numeroase, miofibrile puţine, vascularizaţie capilară şi inervaţie bogată. Biochimic şi enzimologic, se caracterizează prin activitate enzimatică oxidativă intensă, activitate fosforilazică şi miozin-ATP-azică redusă, metabolism lipidic intens, rezerve de glicogen reduse, sinteza ATP aerobă, corespunzătoare respiraţiei mitocondriale. Fiziologic, se disting prin *contracţie lentă*, cheltuială redusă de energie, regim de funcţionare de lungă durată, oboseală instalată tardiv.

Scanned with OKEN Scanner

Fibrele de tip II (T_2), corespund fibrelor „albe" şi au particularităţi inverse tipului I (T_1). La mamifere şi păsări, nu există muşchi formaţi exclusiv din fibre „albe" sau „roşii", culoarea muşchilor reflectând doar preponderenţa unuia sau celuilalt tip de fibră. În general, *fibrele roşii* predomină în *muşchii extensori* şi în cei cu *acţiune tonică*, muşchii animalelor sălbatice, iar *fibrele albe* în *muşchii flexori*, cu *acţiune predominant dinamică.*

4.2.4. Histofiziologia fibrelor musculare striate

Poate fi sintetizată în următoarele patru momente sau fenomene : a) *iniţierea contracţiei ;* b) *cuplarea excitaţiei cu contracţia ;* c) *contracţia musculară propriu-zisă ;* d) *relaxarea.*

a) Iniţierea contracţiei „in situ". Este consecinţa excitabilităţii fibrei musculare la stimuli fiziologici de natură nervoasă, transmisă prin ramificaţiile axonului unui neuron motor spinal sau cranian. Contactul fibrelor nervoase cu cele musculare se face prin intermediul *sinapsei neuro-musculare (placa motorie)* (fig. 4.7). Influxul nervos ajuns la nivelul plăcii motorii determină eliberarea mediatorului chimic, care va modifica permeabilitatea sarcolemei pentru Na^+ şi K^+ şi, consecutiv, va determina o zonă de depolarizare (negativare) a acesteia, care se va propaga ca potenţial de acţiune muscular de-a lungul întregii fibre musculare. Datorită existenţei sistemului T, acest potenţial se propagă în profunzimea fibrei, spre sistemul miofibrilar.

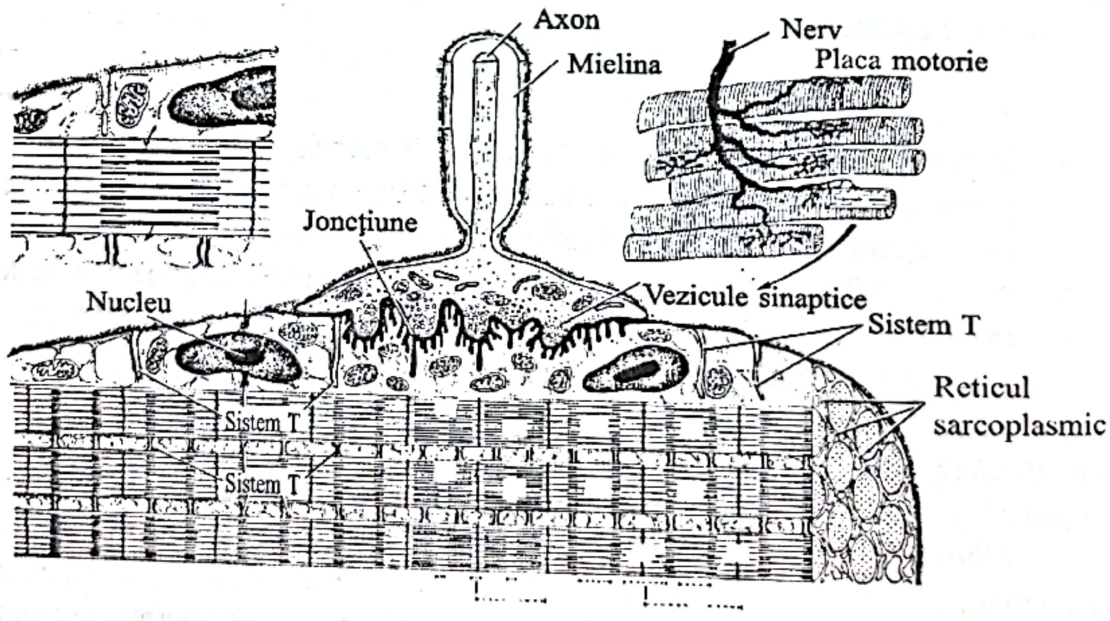


Fig. 4.7. ***Ultrastructura plăcii motorii şi mecanismul contracţiei*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

b) *Cuplarea excitaţiei cu contracţia.* Are loc la nivelul triadelor. Propagarea potenţialului de acţiune muscular, prin totalitatea tubilor T de la nivelul triadelor, determină eliberarea ionilor de Ca^{2+} din cisternele sistemului L. Ionii de Ca^{2+} se cuplează cu troponina C, suprimând acţiunea represivă a acesteia asupra interacţiunii dintre actină şi miozină.

c) *Contracţia musculară propriu-zisă.* Este explicată în modul cel mai plauzibil prin *teoria „mecanismului glisant"* (sau *al alunecării*). Conform acestei teorii are loc alunecarea microfilamentelor subţiri din discurile clare (de actină) printre microfilamentele groase (de miozină) din discurile întunecate, prin telescopare ; actina vine în contact cu miozina, rezultând *complexul contractil acto-miozină,* contracţia realizându-se prin punţile de legătură dintre actină şi miozină (vezi Sistemul motil A-M, 3.4.3.1). Interacţiunea dintre actină şi miozină coincide cu hidroliza ATP de către *miozin-ATP-aza* activată de prezenţa ionilor de Ca^{2+}.

d) *Relaxarea musculară.* Este, de asemenea, un proces activ. Când stimularea nervoasă motorie încetează, ionii de calciu sunt recaptaţi de cisternele reticulului sarcoplasmic printr-un travaliu osmotic, cu consum de energie furnizată de ATP. Scăzând concentraţia de calciu la nivelul miofibrilelor, interacţiunea dintre actină şi miozină nu mai este posibilă, iar scindarea ATP încetează, deoarece miozin-ATP-aza nu mai este activată. Elasticitatea sarcolemei, precum şi tensiunea exercitată de ţesutul conjunctiv fibroelastic al muşchiului, reface dimensiunea de repaus a fibrelor musculare.

4.2.4.1. Placa motorie (inervaţia motorie a fibrelor musculare scheletice)

Neuronul motor împreună cu fibrele musculare pe care le inervează formează o unitate motorie. Numărul fibrelor musculare scheletice inervate de un singur neuron variază în funcţie de tipul de muşchi. În general, cu cât mişcările sunt mai fine, cu atât numărul fibrelor musculare inervate de un neuron motor este mai mic, şi invers. Spre exemplu, în muşchii extrinseci ai globilor oculari fiecare fibră musculară este inervată de un axon (*unitate motorie mică*), dar în muşchii majori ai membrelor, *un singur axon* inervează 1500-2000 de fibre musculare (*unitate motorie mare*).

Aceasta este un exemplu tipic de *sinapsă neuro-efectoare*, sinapsă chimică, excitatorie, colinergică. Pe măsură ce axonul se apropie de fibrele musculare, ramificaţiile sale îşi pierd teaca de mielină, dar rămân acoperite de o continuare a celulelor Schwann şi se termină cu *„butoni"*, aşezaţi într-o depresiune pe suprafaţa fibrei musculare scheletice, numită *depresiune sinaptică* (*jgheab sinaptic*).

Placa motorie cuprinde în structura sa două componente : *a) componenta presinaptică* ce aparţine axonului neuronului care se termină pe rabdocit sub formă de *buton terminal ; b) componenta postsinaptică* reprezentată de sarcolema rabdocitului.

În momentul în care fibra nervoasă care inervează muşchiul, abordează fibra musculară striată de tip scheletic, pierde teaca de mielină. Teaca Henle se

Scanned with OKEN Scanner

continuă cu endomisium (ţesutul conjunctiv al sarcolemei) iar teaca Schwann realizează joncţiuni cu membrana plasmatică a fibrei musculare striate.

a) *Componenta presinaptică.* Butonul terminal are o ultrastructură tipică pentru o presinapsă, conţinând numeroase mitocondrii (care ocupă 13-17 % din volumul butonului terminal) şi câteva sute de mii de *vezicule sinaptice* (cca 1000/μm^3), cu diametrul de 40-50 nm, în care este stocată *acetilcolina,* mediatorul chimic al plăcii motorii.
Membrana presinaptică este un traductor electrochimic care converteşte semnalul electric (potenţialul de acţiune propagat) într-un semnal chimic (eliberarea cuantelor de acetilcolină în fanta sinaptică). O cuantă de acetilcolină corespunde la 12000-20000 de molecule de acetilcolină, cât conţine o veziculă sinaptică.

b) *Componenta postsinaptică* este caracterizată printr-o configuraţie specială ultrastructurală şi o compoziţie moleculară particulară a sarcolemei, care formează *membrana postsinaptică.* De asemenea, sarcoplasma imediat adiacentă conţine numeroşi nuclei „veziculoşi", mai multe mitocondrii şi aglomerări locale de ribozomi şi reticul endoplasmic rugos.

Sarcolema prezintă la acest nivel numeroase invaginări, prin care se realizează creşterea suprafeţei receptoare postsinaptice, în care sunt localizaţi receptorii pentru acetilcolină (cu o densitate de 15000-20000/μm^2). Receptorul pentru acetilcolină este un *pentamer proteic*, alcătuit din *două subunităţi alfa* şi *câte una beta, gamma* şi *delta*. Aceste cinci polipeptide componente ale receptorului sunt dispuse în sarcolemă ca proteine transmembranale, integrale.

În membrana postsinaptică este localizată şi *acetilcolinesteraza.* Acetilcolina şi acetilcolinesteraza reprezintă *markerii* funcţionali ai membranei postsinaptice, care fac din acest sector al sarcolemei un microdomeniu cu alcătuire moleculară deosebită de restul sarcolemei. Membrana postsinaptică este un traductor chemo-electric care transformă mesajul chimic al acetilcolinei într-un semnal electric. Cuante unice de acetilcolină sunt descărcate spontan şi continuu din presinapsă şi produc mici depolarizări ale membranei presinaptice. Sosirea unui impuls nervos în presinapsă descarcă sincron cca 100 de cuante de acetilcolină, ceea ce corespunde la cca. 2 milioane de molecule de acetilcolină care traversează *fanta sinaptică* şi produc potenţialul propriu-zis de placă motorie. Aceasta, atingând o valoare-prag, declanşează *unda de depolarizare* ce se propagă în toată sarcolema şi apoi în interiorul fibrei musculare prin *sistemul T*, provocând eliberarea ionilor de Ca^{2+} din cisternele sistemului L. Ionii de Ca^{2+} se cuplează cu troponina C, realizându-se schimbarea poziţiei tropomiozinei şi astfel devine posibilă interacţiunea actinei cu miozina.

Scanned with OKEN Scanner

4.2.4.2. Fusul neuromuscular (inervaţia senzitivă a fibrelor musculare scheletice)

Muşchii scheletici conţin numeroase terminaţii senzitive, unele dintre ele fiind simple terminaţii amielinice, dispuse spiralat în jurul fibrelor musculare, în timp ce altele sunt formaţiuni cu o organizare complexă şi specifică şi se numesc *fusuri neuromusculare.*

Fusul neuromuscular (fig. 4.8) are formă ovoidă, alungită, cu dimensiunile aproximative 1-3 mm lungime şi 0,2 mm grosime, şi constă dintr-o *capsulă conjunctivă,* care acoperă câteva fibre musculare striate, modificate, asociate cu terminaţii nervoase senzitive şi motorii.

Fibrele musculare din fusul neuromuscular (din interiorul capsulei) sunt denumite *fibre intrafuzale,* tocmai pentru a fi deosebite de restul fibrelor musculare din muşchiul respectiv, denumite *fibre extrafuzale.* Numărul de fibre intrafuzale variază de la câteva până la 20, în mod obişnuit fiind de 5-10.

Porţiunea mijlocie a fibrelor intrafuzale nu este striată, datorită absenţei locale a miofibrilelor, deci este necontractilă.

Într-o fibră musculară intrafuzală se descriu trei zone: o zonă centrală (*ecuatorială*) şi două zone ce se îngustează spre extremităţile numite *zone polare.*

După structura porţiunii ecuatoriale, fibrele intrafuzale sunt de două feluri: fibre cu *sac nuclear* şi fibre cu *lanţ nuclear.*

Fibrele cu sac nuclear sunt mai groase, prezentând în regiunea centrală aglomerări de 140-150 nuclei, care umflă fibra.

Fibrele cu lanţ nuclear sunt mai subţiri şi prezintă nuclei aşezaţi în monom în axul fibrei.

Dispozitivul nervos cuprinde elemente receptoare şi elemente motorii.

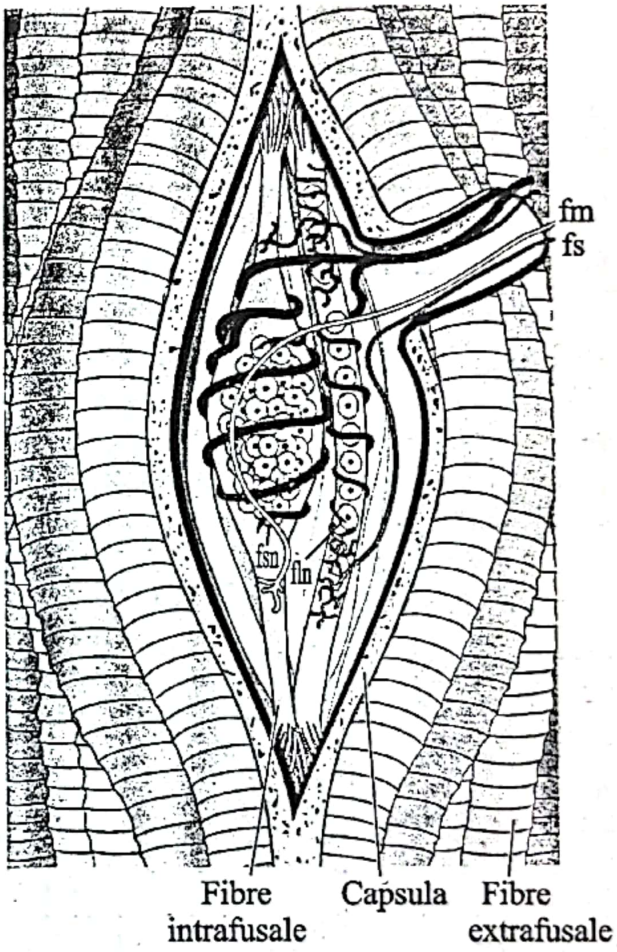


Fig. 4.8. ***Fusul neuromuscular*:** fsn-fibre cu sac nuclear; fln-fibre cu lanţ nuclear; fs-fibră senzitivă; fm-fibră motorie *(Junqueira şi colab., 1998)*

Scanned with OKEN Scanner

Inervaţia senzitivă este reprezentată de *dendritele* neuronilor senzitivi din ganglionii rahidieni, care străbat capsula în regiunea ecuatorială, pierd teaca de mielină, se ramifică şi se înfăşoară în jurul fiecărei fibre fusale (*dispoziţie în spirală*) şi au rol tensioreceptor.

Inervaţia motorie. Prin capetele fusului, pătrund în interiorul acestuia *axonii* neuronilor motori gamma din coarnele ventrale ale măduvei rahidiene şi realizează cu fibrele intrafuzale în cele două zone polare sinapse neuro-musculare (*plăcuţe motorii*).

Rolul acestor terminaţii motorii este să regleze sensibilitatea fusului neuromuscular la întindere. Descărcările din neuronii gamma contractă porţiunile polare ale fibrelor intrafuzale, crescând sensibilitatea porţiunilor ecuatoriale la întindere.

4.2.5. Structura muşchiului scheletic ca organ

Muşchiul scheletic ca organ este alcătuit din două structuri distincte histologic: *rabdocitele* şi *ţesutul conjunctiv,* a cărui prezenţă asigură căi de acces pentru vascularizaţie şi inervaţie. Într-un muşchi striat, fibrele musculare sunt dispuse paralel, orientate pe direcţia mişcării şi legate între ele prin ţesutul conjunctiv care formează *endomisiu, perimisiu* şi *epimisiu* (fig. 4.9).

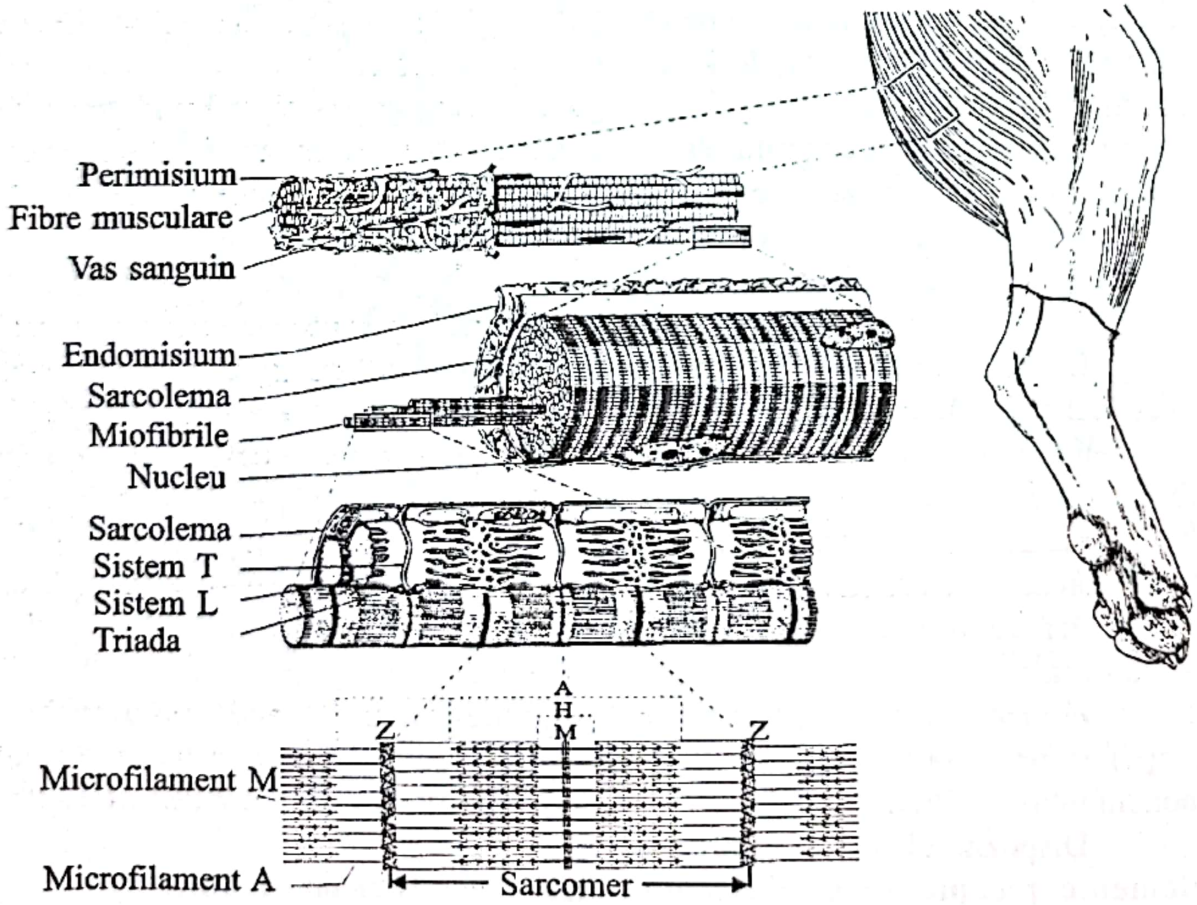


Fig. 4.9. ***Structura muşchiului scheletic ca organ*** *(Liebich şi colab., 1999)*

Scanned with OKEN Scanner

Deşi spaţiul conjunctiv dintr-un muşchi striat scheletic ocupă numai cca. 10 % din volumul muşchiului ca organ, dispoziţia particulară a ţesutului conjunctiv care compartimentează muşchiul, facilitează şi nuanţează funcţia contractilă a muşchiului ca organ, deoarece grupe de fibre (*fascicule*) se pot contracta independent.

Endomisiu. Fiecare fibră este învelită de o teacă conjunctivă subţire, numită *endomisiu,* alcătuită în principal dintr-o *reţea de fibre de reticulină* şi din delicate *fibrile de colagen.* Ocazional, sunt prezente şi fibroblaste şi macrofage, cu rol important în procesele inflamatorii. În acest spaţiu conjunctiv sunt cuprinse capilarele sanguine şi filetele nervoase. Endomisiul nu conţine capilare limfatice. În muşchiul striat scheletic există cca. 2000 de capilare sanguine/mm^2. Capilarele sanguine au un traiect longitudinal printre fibrele musculare, prezentând şi frecvente anastomoze transverse, ceea ce realizează în fapt o reţea capilară în endomisiul fiecărei fibre musculare.

Perimisiu. Mai multe fibre musculare formează un *fascicul primar.* Câteva fascicule primare formează un *fascicul secundar,* iar câteva fascicule secundare formează un *fascicul terţiar* ş.a.m.d. Fiecare fascicul muscular este învelit de o *teacă conjunctivă* care face parte din *perimisiu.* Perimisiul este mai gros decât endomisiul şi este format predominant din *fascicule de fibre colagene* şi *elastice.* El găzduieşte arteriolele, venulele, capilarele limfatice şi nervii.

Epimisiu. Întregul muşchi ca organ anatomic este conţinut într-un înveliş conjunctiv numit epimisiu. Acesta ancorează muşchiul de fascie, al cărui rol este să permită mişcarea relativă faţă de structurile înconjurătoare.

Toate cele trei structuri conjunctive (*endo-, peri-* şi *epimisiu*) sunt în continuitate între ele (perimisiul este legătura dintre endo- şi epimisiu), cât şi cu ţesutul conjunctiv din structurile adiacente muşchiului (tendon, aponevroză, periost).

4.3. Ţesutul muscular striat de tip cardiac

Este format din celule musculare striate care, împreună cu un ţesut interstiţial conjunctivo-nervos, formează *peretele muscular* al cordului (*miocardul*), extinzându-se pe o mică distanţă şi în tunica musculară a vaselor mari aferente şi eferente ale cordului.

Caracteristica funcţională principală a fibrelor musculare cardiace este contracţia *ritmică, automată (involuntară)* şi *continuă.* Morfologic, ele se caracterizează prin faptul că sunt *uninucleate* (mai rar binucleate), poziţia nucleului este *centrală* şi prezintă ramificaţii prin intermediul cărora celulele musculare cardiace stabilesc joncţiuni. Prin această anastomozare aparentă se constituie la MO muşchiul cardiac de *aspect plexiform (în reţea)* (fig. 4.10).

Există două tipuri de celule (sau fibre) musculare cardiace (miocardocite), *fibre cardiace comune,* care constituie miocardul contractil şi *fibre cardiace nodale* (sau specifice), înglobate în miocardul contractil, care constituie *sistemul excito-conducător al cordului.*

Scanned with OKEN Scanner

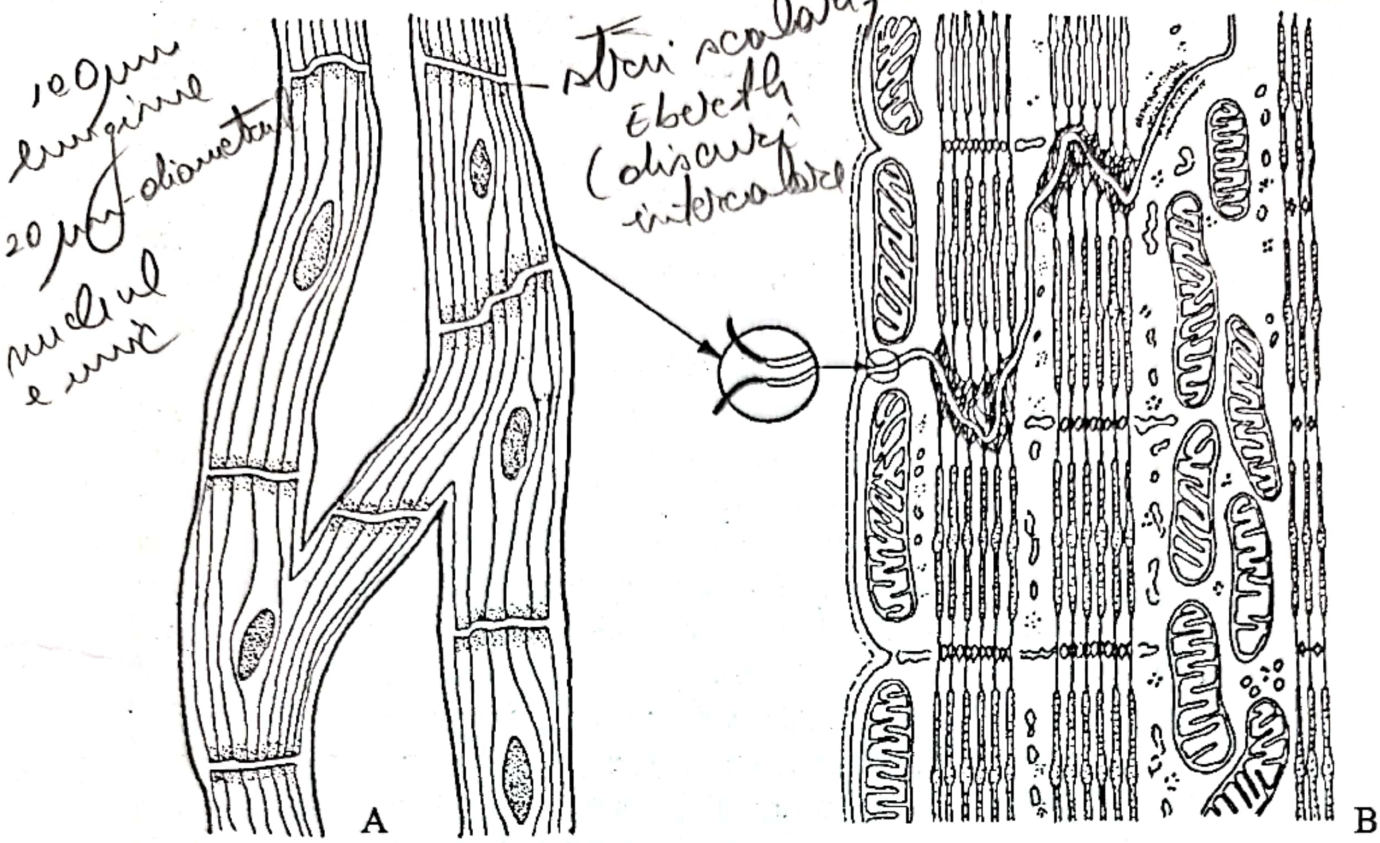


Fig. 4.10. ***Fibre musculare cardiace comune la MO (A) şi la ME (B). Evidenţierea discurilor intercelulare (striile scalariforme Eberth)***

4.3.1. Celulele musculare cardiace comune

Au formă cilindrică, sunt lungi de 50-100 μm şi groase de 15-20 μm (mai subţiri în auricule şi mai groase în ventricule, în special la animalele care efectuează efort fizic). Nucleul miocardocitului este *unic* (foarte rar celula prezintă doi nuclei), este situat central, alungit, 8 μm/2 μm şi prezintă identaţii. Miocardocitele la extremităţi prezintă ramificaţii prin care se realizează joncţiuni, imprimând aspectul unei reţele, în ochiurile căreia se evidenţiază un *endomisiu* format din ţesut conjunctiv, vase şi nervi. Legăturile dintre celulele cardiace comune marchează limita de joncţiune dintre ele, numite şi *striile scalariforme Eberth (discurile intercalare)*. Acestea sunt vizibile, mai ales pe preparatele colorate cu hematoxilină ferică sau hematoxilină fosfotungstică, dar nu pe cele colorate cu hemalaun-eozină. Ele apar ca linii transversale, intens colorate, care intersectează complet fibrele la intervale neregulate şi se numesc *discuri intercalare* (*strii scalariforme Èberth*), deoarece porţiuni ale discului sunt dispuse şi longitudinal în raport cu axul lung al fibrelor, creând imaginea unor trepte de scară.

Miocardul era considerat un sinciţiu morfologic, deoarece microscopia optică, datorită slabei rezoluţii, nu putea elucida această problemă.

Scanned with OKEN Scanner

Examinarea miocardului la ME a rezolvat problema, arătând că acesta este constituit din *fibre individuale*. Noţiunea de sinciţiu privind miocardul a rămas totuşi valabilă doar în ceea ce priveşte comportamentul său funcţional (electric).

Discul intercalar este locul unde celulele musculare cardiace individuale sunt unite cap la cap, discul reprezentând un complex joncţional cu o structură şi funcţionalitate specială. În raport cu striaţiile fibrelor, discul are o dispoziţie particulară şi precisă, invariabilă, la nivelul benzilor I, acolo unde ar fi trebuit să se afle câte o strie Z (înlocuieşte deci stria Z). Reţeaua cu aspect anastomotic a miocardului este constituită deci din entităţi celulare bine individualizate.

Fibra musculară cardiacă comună este alcătuită din: *sarcolemă, nucleu* şi *sarcoplasmă*.

4.3.1.1. Sarcolema

La ME sarcolema este structurată de la interior la exterior din:

- *sarcolema propriu-zisă* (membrana celulară propriu-zisă), formată din *plasmalemă, glicolemă* şi *membrana bazală*.

Membrana bazală cuprinde trei componente structurale:

a) *lamina rara (lamina lucida)* este un spaţiu clar, de aproximativ 2 nm în vecinătatea fibrei musculare;

b) *lamina densa* de 30 nm de aspect electronodens, conţine colagen de tip IV şi glicoproteine.

c) *lamina reticulară* conţine fibre de reticulină şi glicozoaminoglicani care se continuă cu endomisiu.

Plasmalema în dreptul striei Z se invaginează şi formează *sistemul T* (fig. 4.11).

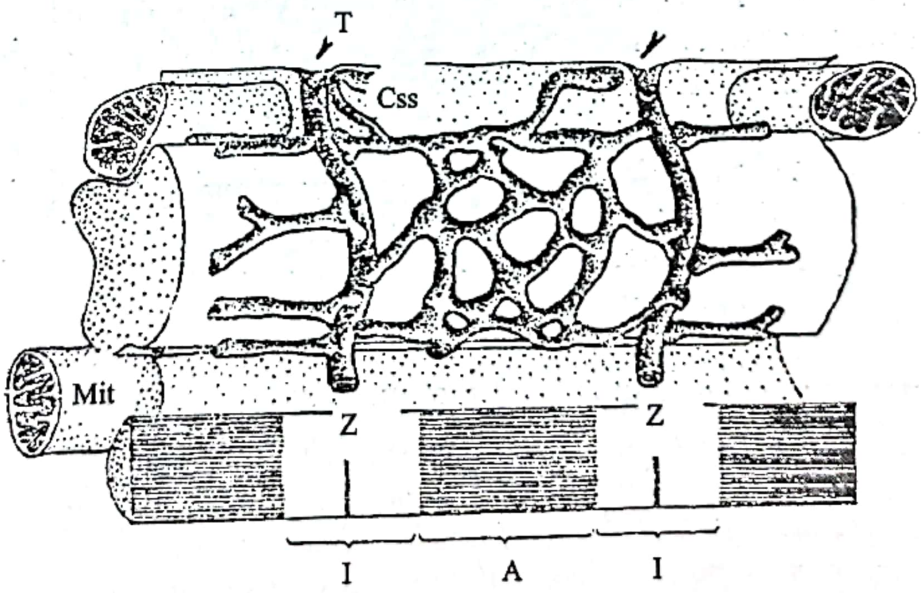


Fig. 4.11. ***Schema aspectului tridimensional al sistemului T al reticulului sarcoplasmic din miocardul ventricular.*** T-tubi; Css-cisternă subsarcolemală; Mit-mitocondrie; Z-stria Z; I-bandă I; A-bandă A.

Scanned with OKEN Scanner

Orificiile de deschidere ale tubilor T în miocardocite sunt mai largi decât ale celor din fibra scheletică. Tubii formează în miocardocite ramificaţii longitudinale, dispuse în lungul celulelor, ramificaţii cu diametrul mic şi uniform, ce leagă sistemele T între ele.

4.3.1.2. Striile scalariforme Eberth

Discurile intercalare (striile scalariforme Eberth) se găsesc localizate numai la nivelul plasmalemei periferice. Acestea sunt asocieri de joncţiuni celulare, cu rol de a asigura coeziunea celulelor musculare cardiace şi de a le cupla funcţional (electric). Nu întreaga suprafaţă a plasmalemelor care formează discul este purtătoare de joncţiuni, existând şi zone de plasmalemă fără astfel de dispozitive de ataşare intercelulară.

Discurile intercalare sunt dispuse transversal în raport cu fibrele; plasmalemele celulelor care vin în contact se interdigitează dând aspectul caracteristic de *zig-zag* (fig. 4.12).

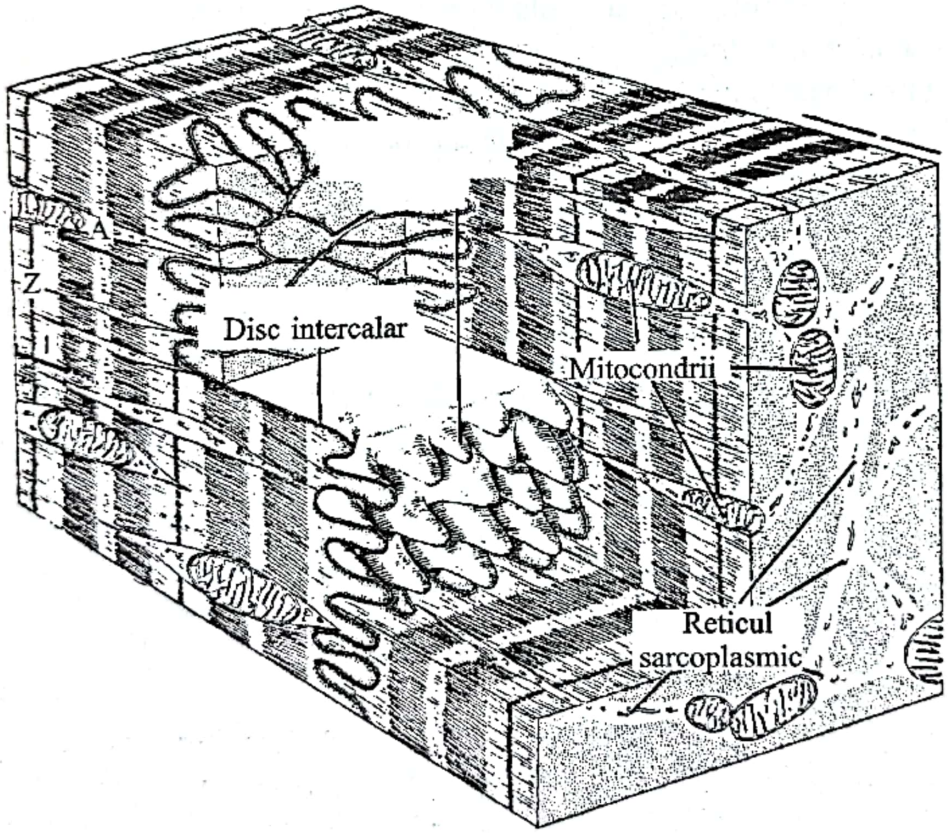


Fig. 4.12. ***Aspectul de zig-zag al plasmalemelor miocardocitelor care se interdigitează*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

În raport cu axul longitudinal al fibrelor musculare, un disc intercalar cuprinde *porţiuni transversale* şi *porţiuni longitudinale.*

Tipul joncţiunilor care se găsesc la nivelul fiecărei porţiuni a discului diferă, conferindu-le din punct de vedere funcţional semnificaţie diferită: porţiunea

Scanned with OKEN Scanner

transversală are rolul de a *solidariza* celulele între ele iar cea longitudinală este răspunzătoare de conducerea intercelulară (*cuplarea electrică*).

Porţiunea transversală (aflată de fapt în dreptul striei Z) are două tipuri de joncţiuni, dispuse una lângă alta (fig. 4.13):

a) *zonule adherens (desmozomi în bandă)*;

b) *macule adherens (desmozomi în pată)*.

În ambele tipuri de joncţiuni, spaţiul interplasmalemal este de 20 nm şi demonstrează rolul lor doar în adezivitatea intercelulară, prevenind alunecarea fibrelor între ele în timpul contracţiei.

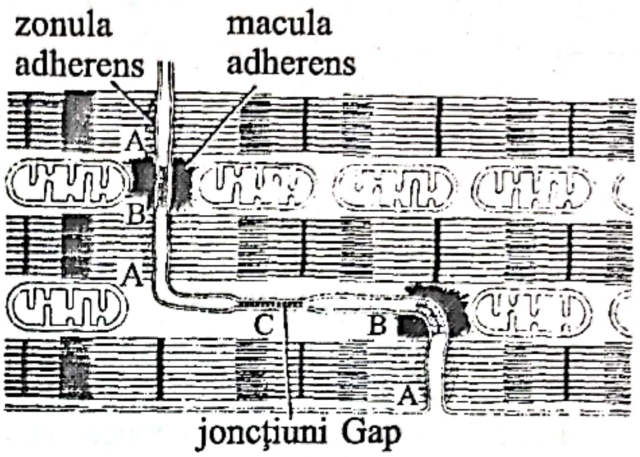


Fig. 4.13. ***Joncţiuni de tip zonula adherens (A) şi macula adherens (B) în porţiunea transversală a discului intercalar; joncţiuni Gap (C) în zona longitudinală a discului***
(Junqueira şi colab., 1998)

În *porţiunea longitudinală* a discului intercalar este prezent numai un singur tip de joncţiune (*Gap*). Această porţiune este structurată din *conexoni*, care sunt strâns alipiţi în spaţiile extracelulare şi aşezaţi în aşa fel încât canalele lor centrale devin continue. Aceste joncţiuni permit cuplarea electrochimică între celulele miocardului. La mamifere, joncţiunile Gap constituie 10-13 % din suprafaţa discului intercalar, reprezentând 1 % din suprafaţa plasmalemei miocardocitului; numărul conexonilor într-o joncţiune Gap este apreciat la 12000-17000/μm^2.

Feţele laterale ale miocardocitelor, paralele cu axul lung al acestora, sunt larg separate, spaţiile dintre ele putând fi vizibile la MO.

4.3.1.3. Sarcoplasma

Sarcoplasma, mai abundentă decât în fibrele scheletice, este evidentă perinuclear, printre coloanele de miofibrile şi sub sarcolemă. Sarcoplasma cuprinde *organite comune, incluziuni* şi *miofibrile* (*organite specifice*).

Miocardocitul este celula cea mai bogată în *mitocondrii* din organismul animal, având 35 % din volumul ocupat de aceste organite. Spre exemplu, în rabdocit, mitocondriile reprezintă 4-6 %, iar în hepatocit 15 % din volumul celulei.

Mitocondriile cardiace sunt lungi cu numeroase criste; diametrul lor longitudinal ajunge la 6-8 μm (*o singură mitocondrie se poate întinde în lungul a 3-4 sarcomere*).

Numărul mitocondriilor pe gram de ţesut miocardic este apreciat la 250 miliarde. Cantitatea imensă a mitocondriilor are consecinţe extrem de importante pentru funcţionalitatea celulei cardiace.

Scanned with OKEN Scanner

Mitocondriile stabilesc legături strânse cu cisternele reticulului sarcoplasmic.

Reticulul endoplasmic rugos este slab reprezentat în celulele cardiace. În mod obişnuit, există în zona centrală a miocardocitelor câteva cisterne ale reticulului având ataşaţi ribozomi.

Aparatul Golgi, juxtanuclear, este puţin dezvoltat, fiind reprezentat de câteva vezicule golgiene.

Lizozomii primari sunt rari. De obicei se observă *corpi reziduali,* sub forma *granulelor de lipofuscină* (pigment de îmbătrânire), localizate în regiunea perinucleară.

Peroxizomii sunt prezenţi şi localizaţi adesea la nivelul striei Z.

Reticulul sarcoplasmic (RS) este analog în fibra musculară cardiacă, cu cel din fibra de tip scheletic.

Gradul dezvoltării RS variază, fiind mai abundent în celulele musculare cardiace ale animalelor care au o frecvenţă mai mare a bătăilor şi mai puţin abundent, la cele cu o frecvenţă mai mică a bătăilor cardiace.

Reticulul sarcoplasmic din miocardocite conţine *calsechestrină,* proteină cu mare afinitate pentru ionii de calciu, de prezenţa sa fiind legată capacitatea RS de a stoca ionii Ca^{2+}.

Ca incluzii în miocardocite se evidenţiază *granule de glicogen, lipide* (la animalele cu stare de întreţinere bună), *pigment lipofuscinic* (*corpi reziduali*) la animalele în vârstă.

Granulele de glicogen sunt vizibile în cantitate relativ mare în celulele musculare cardiace, atât sub formă de grămezi cât şi dispersate în spaţiile interfibrilare, unde sunt dispuse în şiruri între miofilamente, fiind mai numeroase la nivelul benzii I. Granulele de glicogen sunt sferice, cu diametrul de 30-40 nm.

Granulele lipidice se remarcă frecvent, mai ales în apropierea mitocondriilor.

Miofibrilele sunt formate din *miofilamente groase* (*de miozină*) şi *subţiri* (*de actină*), având aceeaşi aşezare în sarcomer ca în fibra striată scheletică. Miofibrilele sunt mai puţin numeroase decât în rabdocit, dar mai groase (2-3 μm), prezentând aceeaşi structură periodică tipică. Lungimea sarcomerului este de 2,2 μm la miocardocitul în repaus ; această lungime este optimă pentru producerea unei tensiuni maxime.

Contracţia se realizează prin ataşarea şi dispunerea ciclică a punţilor transversale între filamentele groase şi subţiri, determinând filamentele subţiri să alunece în lungul filamentelor groase, către centrul benzii A.

Histofiziologie. Contracţia se realizează în aceleaşi etape şi prin acelaşi mecanism glisant ca în cazul fibrelor scheletice. Particularitatea o constituie metabolismul predominant aerob şi posibilitatea de a sintetiza o cantitate mult mai mare de ATP, datorită bagajului enzimatic deosebit de bogat.

Discurile intercalare, pe lângă solida aderenţă intercelulară ce o realizează, se consideră că au şi rolul de a facilita transmiterea undei de contracţie de la o celulă la alta, datorită abundenţei ATP-azei în membrane şi a ionilor de calciu în sarcoplasma limitrofă.

Scanned with OKEN Scanner

celula nodala are diametrul de 100-200 μm

4.3.2. Celulele musculare cardiace specifice (celulele nodale)

Fibrele musculare cardiace specifice (celulele nodale) sunt celule specializate, de *tip embrionar*, care datorită proprietăţii de *autoexcitabilitate* şi *conductibilitate* asigură automatismul şi coordonarea contracţiilor cardiace. Ele sunt cuprinse în masa fibrelor cardiace comune, contractile, formând *sistemul excitoconducător* al inimii : *nodulul sinoatrial*, *nodulul atrioventricular*, *fasciculul Hiss* şi *reţeaua subendocardică Purkinje*. Între celulele nodale există joncţiuni de tip desmozomal şi Gap, dar lipsesc *discurile intercalare*. De asemenea, aceste celule se caracterizează şi prin absenţa tubilor T sarcolemali.

Sistemul excitoconducător este o reţea constituită din celule independente, mai mari sau mai mici. La microscopul optic, celulele ţesutului nodal se disting de fibrele cardiace comune prin : *citoplasma abundentă* şi *clară*, *cantităţi mari de glicogen*, *numărul redus de miofibrile*, *situate mai ales periferic*, *nucleul unic şi dispus central*.

Miocardocitele sistemului excitoconducător sunt de trei tipuri : *celule palide* (P), *celule de tranziţie* (T) şi *celule Purkinje*.

Celulele P au formă rotundă sau ovală, cu citoplasma de aspect clar şi cu nucleu central. Sarcolema acestor celule are numeroase invaginări de origine pinocitară, fiind lipsite de *sistem T*. Aparatul contractil este slab dezvoltat, miofibrilele sunt puţine şi dispuse fără o orientare ordonată, celulele P neavând funcţie contractilă. Mitocondriile sunt rare, au dimensiuni mici şi criste puţine, reticulul sarcoplasmic fiind, de asemenea, foarte puţin dezvoltat. Celulele P stabilesc joncţiuni de tip desmozomal numai între ele sau cu celulele T.

Celulele T au formă alungită, structură şi organizare celulară intermediară între celulele P şi miocardocitele comune. Sarcolema celulelor T este lipsită de sistemul T. Celulele T conţin mai multe miofibrile şi mitocondrii decât celulele P. Celulele T ar avea rolul de a răspândi impulsul care îşi are originea în celulele P şi de a opri accesul impulsurilor ectopice premature.

Aceste celule stabilesc joncţiuni cu celulele P sau/şi cu miocardocitele comune.

Celulele Purkinje sunt mai mari decât miocardocitele comune, având un diametru de 100-200 μm (fig. 4.14) ; citoplasma este clară, cu un inel de miofibrile localizate periferic. Citochimic se evidenţiază numeroase granule de glicogen, care după fixare şi colorare suferă o polarizare *(fenomenul de spălare)*. Celulele Purkinje conţin atât canale pentru Na^+ cât şi pentru Ca^{2+} (la fel ca şi miocardocitele comune), dar fiind lipsite de sitem T, se explică astfel conducerea rapidă a undei de depolarizare de către acestea.

Planul organizării formaţiunilor care constituie sistemul excitoconducător constă, pentru nodul sinoatrial şi atrioventricular, din dispunerea sub formă de grămezi, localizate *central în nod, a celulelor P*, printre acestea şi la *periferia* nodului aflându-se *celulele T*.

Scanned with OKEN Scanner

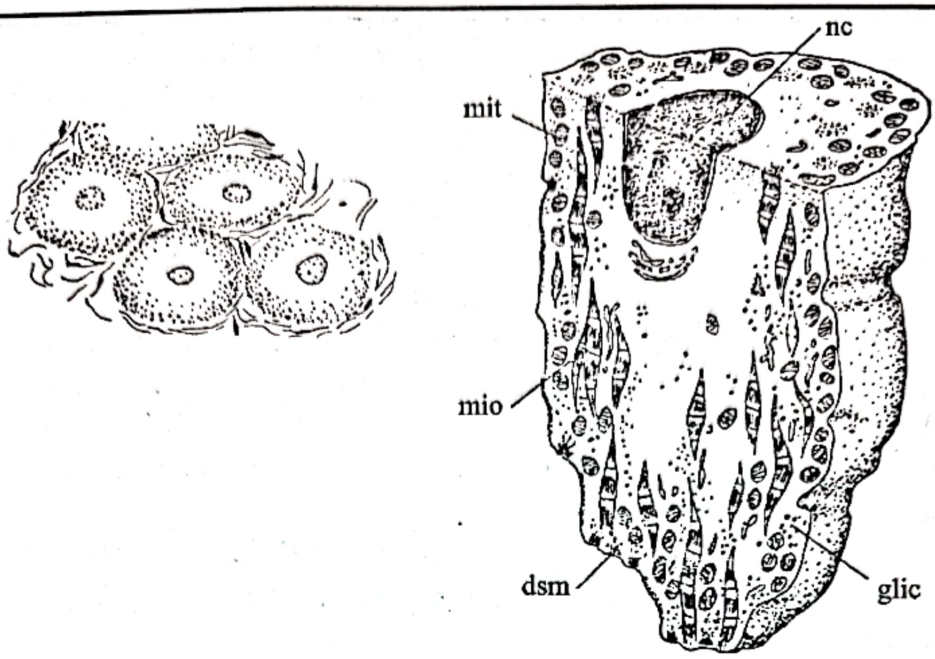


Fig. 4.14. ***Celula Purkinje la MO (A) şi la ME (B)*** : nc-nucleu ; mit-mitocondrii ; mio-miofibrile ; gli-glicogen ; dsm-desmozom

Celulele Purkinje formează corpul principal al *fasciculului Hiss*, precum şi ramurile sale, ca de altfel şi ramificaţiile terminale subendocardice. Fasciculul Hiss are o structură asemănătoare unui cablu, celulele Purkinje care-l compun având diametrul lung orientat paralel cu axul său longitudinal.

Sistemul excitoconducător are la periferia sa o lamă fină de ţesut conjunctiv.

4.4. Ţesutul muscular neted

Ţesutul muscular neted este format din *celule (fibre) fusiforme*, având o repartiţie predominant viscerală şi o contracţie involuntară. Denumirea de „netede" a fost determinată de faptul că miofibrilele lor au o structură omogenă (fără discuri A şi I), deci şi fără striile Z şi M. Neexistând strii Z, în fibrele musculare netede nu se remarcă sarcomere, ca în fibrele striate.

Ca localizare, în unele zone, relativ restrânse, fibrele musculare netede apar izolate sau în grupe mici (muşchii erectori ai firelor de păr, axul vilozităţilor intestinale, traveele splinei, limfonozilor, corpilor cavernoşi, dartos, albugineea testiculului, medulara ovarului etc.).

În pereţii organelor cavitare (tubul digestiv, căile urinare, genitale, respiratorii, biliare, extrahepatice etc.), fibrele musculare netede sunt grupate în *straturi* sau *tunici* unice (longitudinale, circulare) sau în planuri multiple (longitudinale şi circulare), cu două planuri (la intestin) şi trei planuri (la stomacul glandular). În unele organe (vezicula biliară, vezica urinară, uter), unul din planurile musculare

Scanned with OKEN Scanner

conţine fibre netede dispuse *plexiform*. Planurile musculare suprapuse sunt legate între ele prin *septe conjunctive* mai groase, ce conţin reţele vasculare şi plexuri nervoase. În toate cazurile, solidarizarea fibrelor netede este realizată atât prin joncţiuni de membrană, cât mai ales prin existenţa unei teci subţiri conjunctive formată din fibre colagene, de reticulină şi elastice ce leagă foarte strâns fibrele netede între ele. Astfel, forţa de contracţie a acestora este în primul rând transmisă structurilor conjunctive pericelulare, care o repartizează apoi în mod mai uniform altor structuri, mai rezistente, din peretele organului respectiv.

Vascularizaţia ţesutului muscular neted este mai redusă decât cea a ţesutului striat scheletic sau cardiac. Vasele sanguine sunt mai abundente în septele conjunctive dintre tunicile musculare, printre fibrele netede, capilarele fiind rare, formând reţele cu ochiuri largi.

Inervaţia motorie a fibrelor netede este asigurată de fibre nervoase, realizată printr-o joncţiune neuromusculară cu o structură mult mai simplă decât a plăcii motorii din muşchii striaţi.

Forma fibrelor musculare netede poate îmbrăca două aspecte : fie *fusiforme,* cu o parte centrală mai groasă şi extremităţile alungite, ca în majoritatea viscerelor cavitare, fie *neregulat-ramificate,* în media arterelor de tip elastic. Forma specifică a fibrelor musculare netede, în raport cu cele striate scheletice sau cardiace, le conferă un raport suprafaţă/volum mai mare.

Forma de fus presupune o porţiune centrală unde se află situat nucleul, mai groasă (5-10 μm), care spre extremităţi se subţiază treptat. Lungimea lor este diferită : *scurte,* de 15-20 μm în pereţii vaselor ; *mijlocii,* de 50-100 μm în pereţii viscerelor cavitare ; *lungi,* hipertrofiate, în miometrul uterului gestant, când pot atinge lungimea de 500 μm şi grosimea de 25 μm.

Nucleul, totdeauna unic şi situat central, are formă de bastonaş, cu dimensiunile de cca 10/2 μm. Axul lung al nucleului este paralel cu axul lung al celulei. În fibra contractată, nucleul se scurtează şi devine spiralizat (*în tirbuşon*). De regulă, nucleul este eucromatic.

Microscopic, aceste fibre apar constituite din *sarcolemă, sarcoplasmă* şi *nucleu.*

4.4.1. Sarcolema

Învelişul celular al fibrelor musculare netede este similar celorlalte tipuri de muşchi, fiind format din *sarcolema propriu-zisă* şi *membrana bazală* (vezi : sarcolema fibrei striate), cu deosebirea că aşa-zisa membrană bazală este de două ori mai subţire decât la fibra striată. Sarcolema fibrelor netede, spre deosebire de cea a fibrelor striate, *nu prezintă tubi T,* dar la nivelul ei se pot deosebi trei zone de specializare morfofuncţională, care nu sunt prezente la fibrele musculare scheletice : *caveolele, ariile dense* şi *joncţiunile intercelulare.*

Caveolele sunt microinvaginaţii ale plasmalemei fibrei musculare netede, cu formă veziculară sau turtită, care comunică cu spaţiul extracelular. În medie au

Scanned with OKEN Scanner

dimensiuni de : 70 nm grosime şi 120 nm lungime. Orificiile lor de comunicare cu spaţiul extracelular au dimensiuni în jur de 35 nm. Prin prezenţa caveolelor suprafaţa fibrei musculare netede creşte cu cca 70 % faţă de forma simplă geometrică, de dublu con efilat. Reconstrucţiile tridimensionale au demonstrat faptul că aceste caveole nu sunt dispuse la întâmplare, ci apar distribuite în şiruri (benzi) paralele cu axul longitudinal al fibrei, benzile de caveole fiind despărţite prin *ariile dense* (fig. 4.15).

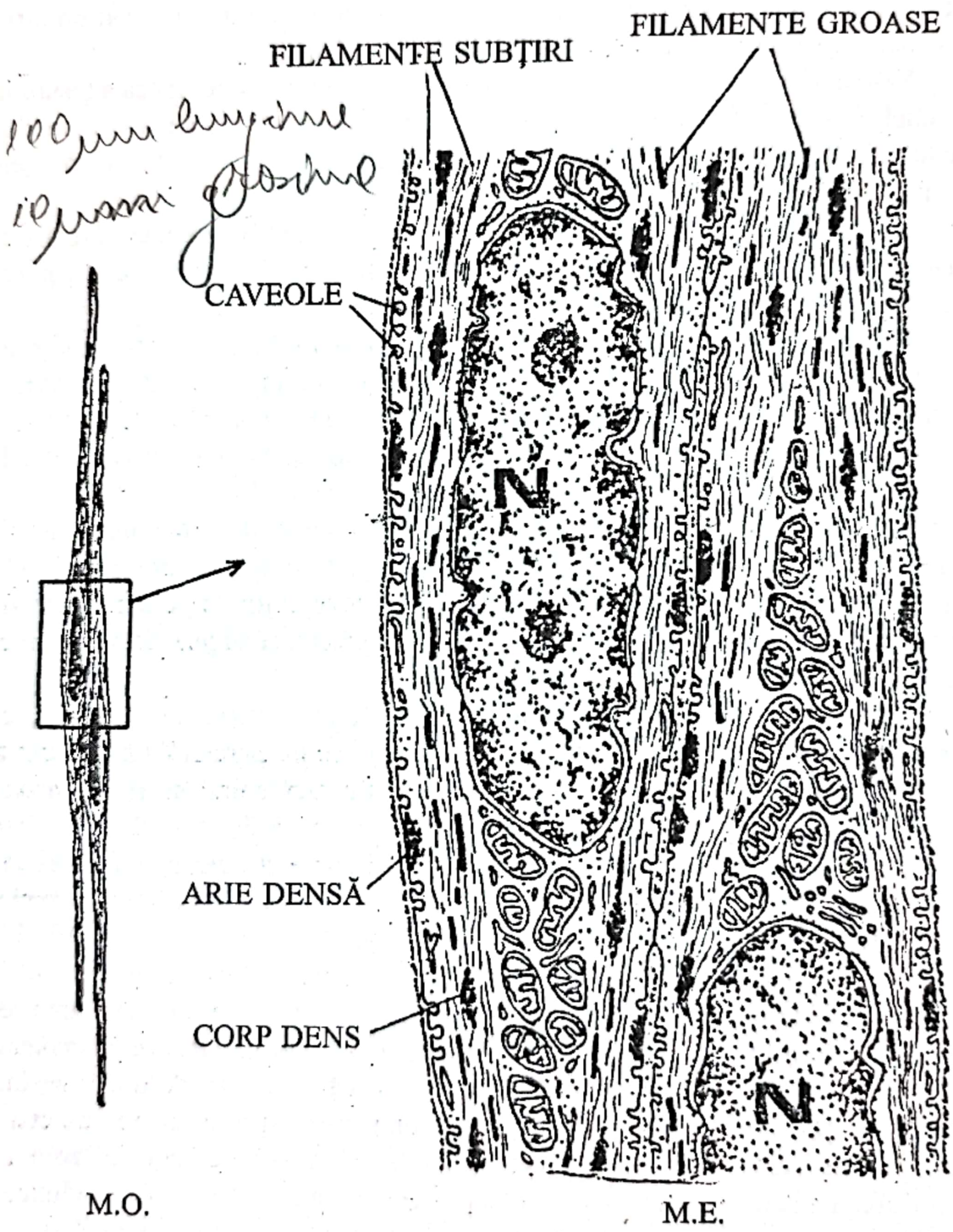


Fig. 4.15. *Structura şi ultrastructura fibrei musculare netede*

Ariile dense sunt zone de material electronoopac ataşate de faţa internă a plasmalemei. Componenta chimică principală a ariilor dense este proteina *vinculina* (lat. *vinculum* = legătură). Aceste arii reprezintă *locurile de ataşare* a microfilamentelor subţiri de actină, ce se ancorează de plasmalemă.

Joncţiunile intercelulare se realizează între fibrele musculare netede şi pot fi:

- joncţiuni de comunicare;
- joncţiuni intermediare;
- apoziţii prin proiecţii digitiforme (fig. 4.16).

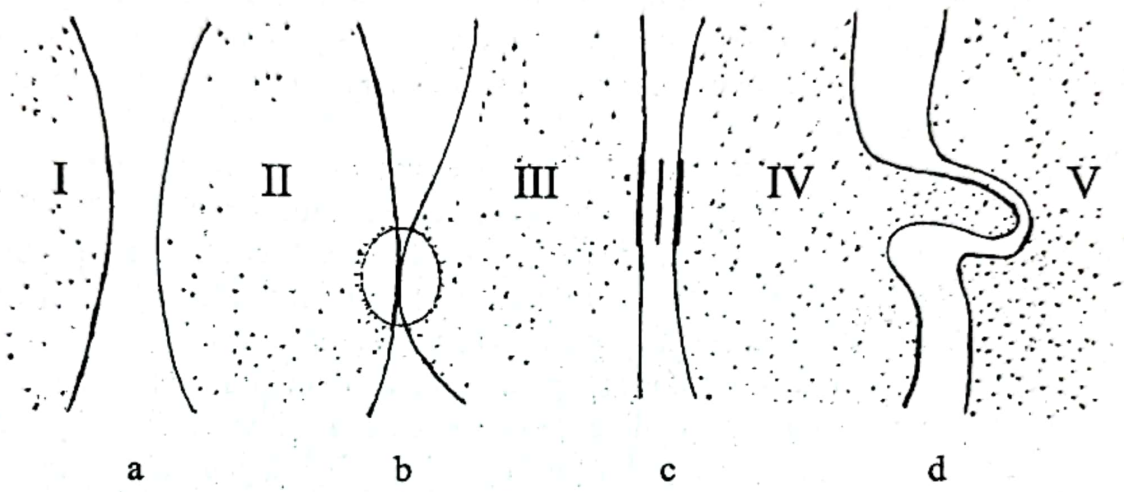


Fig. 4.16. ***Tipurile de joncţiuni între fibrele musculare netede***: a-spaţiul intercelular; b-joncţiune comunicantă (Gap); c-joncţiune intermediară (de tip desmozomal); d-proiecţie digitiformă

Joncţiunile comunicante (Gap) ocupă în medie până la 1 % din suprafaţa fibrelor musculare netede. Din punct de vedere ultrastructural şi al organizării moleculare nu diferă de joncţiunile din miocardocitele comune. Funcţional, ele au două roluri importante: *cuplarea electrică* şi cea *metabolică* dintre celulele musculare netede. Trebuie subliniat că joncţiunile de comunicare sunt structuri *dinamice*, care se pot asambla şi dezasambla în funcţie de stimul şi de starea funcţională.

Joncţiunile intermediare (plăci de ataşare) sunt varietăţi de joncţiuni tip *adherens* la discurile intercalare, cu un spaţiu intercelular de 40-60 nm şi cu acumulări de material electronooptic pe frontul sarcoplasmic. Semnificaţia funcţională a joncţiunilor intermediare este *mecanică*, de solidarizare intercelulară. Ele reprezintă *„puncte fixe"* (false inserţii), care, prin prezenţa lor, permit exteriorizarea contracţiilor fibrelor musculare netede individuale ca o contracţie a muşchiului neted, respectiv *in toto*. Joncţiunile intermediare trebuie deosebite clar de desmozomi, în care spaţiul intercelular este mai larg, septat şi în care, în membranele adiacente apar particule intramembranare caracteristice, reprezentând probabil legături transmembranare. Mai mult, desmozomii sunt conectaţi cu filamente intermediare (exemplu

Scanned with OKEN Scanner

tonofilamentele celulelor epiteliale) în timp ce joncţiunile intermediare sunt asociate cu microfilamente de actină.

Apoziţiile prin proiecţii digitiforme (protruzii şi intruzii) sunt prelungiri cu forme şi dimensiuni diferite, pe care o celulă musculară netedă le trimite spre celulele învecinate, în aşa fel încât, o *evaginare* a unei celule pătrunde într-o *invaginare* a celulei adiacente, stabilind un angrenaj intercelular de tip *roată dinţată.*

4.4.2. Sarcoplasma

Sarcoplasma fibrei musculare netede este compusă dintr-o matrice în care se găsesc :

- *organite celulare comune* (mitocondrii, reticul endoplasmic rugos, ribozomi, complex Golgi, lizozomi, centrozom, microtubuli etc.), care asigură procesele vitale ale celulei ;
- *organite specifice* (microfilamentele de actină, miozină şi reticulul sarcoplasmic), care reprezintă baza contracţiei şi reglării ei ;
- *incluziuni de glicogen* şi *lipide,* care reprezintă rezervele energetice ale celulei.

Mitocondriile. Cele mai multe mitocondrii sunt de formă alungită, iar cele situate în vecinătatea polilor nucleului pot avea o formă rotund-ovalară sau neregulată. De regulă, orientarea mitocondriilor este paralelă cu axul longitudinal al celulei.

Există trei regiuni intracelulare de concentrare a mitocondriilor : printre microfilamente, furnizând energia sub formă de ATP, necesară contracţiei ; în axul sarcoplasmic al celulei ; în vecinătatea altor organite, furnizând energia necesară diferitelor procese de sinteză şi în imediata vecinătate a membranei celulare, furnizând ATP-ul necesar pompelor ionice (exemplu : pompa Na^+/K^+, pompa de Ca^{2+}).

Reticulul endoplasmic rugos este şi el prezent în fibra musculară netedă, dar mai slab dezvoltat decât reticulul endoplasmic neted (sarcoplasmic). El este localizat de regulă, în axul sarcoplasmic central al celulei. Tot în axul sarcoplasmic al celulei sunt şi relativ numeroşi *ribozomi liberi.*

Complexul Golgi este situat la extremităţile nucleului şi este slab dezvoltat, dar devine proeminent în cazul orientării celulei spre sinteze.

Lizozomii sunt rari în fibrele musculare netede.

Centrozomul poate fi observat ocazional în vecinătatea nucleului, dispus într-o depresiune a învelişului nuclear.

Deşi în fibrele musculare netede există aceleaşi tipuri de proteine contractile (cu excepţia *troponinei,* înlocuită de *caldesmonă*), organizarea ultrastructurală a aparatului contractil apare deosebită. În fibrele musculare netede se descriu *microfilamente subţiri de actină şi microfilamente groase de miozină,* fără strii Z şi M şi, de asemenea, fără sarcomere. În schimb, caracteristică pentru fibra musculară netedă este prezenţa aşa-numiţilor *corpi denşi.*

Microfilamentele subţiri de *actină* din fibrele musculare netede sunt din punct de vedere ultrastructural, asemănătoare celor din fibrele musculare striate.

Scanned with OKEN Scanner

Grosimea lor este aceeaşi de 6 nm, dar lungimea este variată. Asemănarea nu este întâmplătoare, deoarece moleculele de actină şi tropomiozină, care formează structura de bază a microfilamentului subţire, sunt similare.

Microfilamentele subţiri din fibra musculară netedă nu conţin troponină (ca în fibra striată) ci caldesmonă, care joacă un rol analog complexului troponinic. Pe de altă parte, caldesmona nu există în fibra musculară striată scheletică.

Corpii denşi sunt formaţiuni ultrastructurale (vizibili numai la microscopul electronic) strict specifice fibrelor musculare netede, de unde şi denumirea de *leiozomi* (Popescu, 1987). Pe imaginile electronomicroscopice apar ca nişte pete întunecate, mai opace la fluxul de electroni decât restul structurilor citoplasmatice. Leiozomii sunt distribuiţi relativ dezordonat printre microfilamente. Au formă alungită pe secţiuni longitudinale (lungimea până la 1 μm) şi pe secţiuni transversale (diametrul 30-300 nm). În medie, există cca 10 leiozomi/μm^2 de secţiune.

Din punct de vedere *ultrastructural* ei apar formaţi dintr-o aglomerare de *microfilamente subţiri de actină dispuse într-o matrice amorfă, osmiofilă.*

Din punct de vedere al *compoziţiei chimice* este demonstrat că leiozomii (corpii denşi citoplasmatici) conţin *alfa-actinină* şi *filamină.* Leiozomii sunt formaţiuni citoplasmatice de ancorare a microfilamentelor subţiri. Acestea sunt ancorate, pe de o parte, de *ariile dense* ale sarcolemei, iar pe de altă parte, de *leiozomii (corpii denşi citoplasmatici).*

Caracteristicile microfilamentelor groase de miozină din fibra musculară netedă diferă de cele ale microfilamentelor groase de miozină din fibra musculară striată.

- *grosime* medie cca 15 nm (mai mare ca în fibra striată);
- *lungime* medie cca 2,2 μm (mai mare ca în fibra striată);
- *agregarea moleculelor* în cadrul microfilamentului este particulară.

Reticulul sarcoplasmic este dispus sub formă de reţea în axul central al sarcoplasmei fibrei netede şi sub formă de tubi lungi dispuşi în lungul fibrei, localizaţi sub sarcolemă în vecinătatea caveolelor (fig. 4.17).

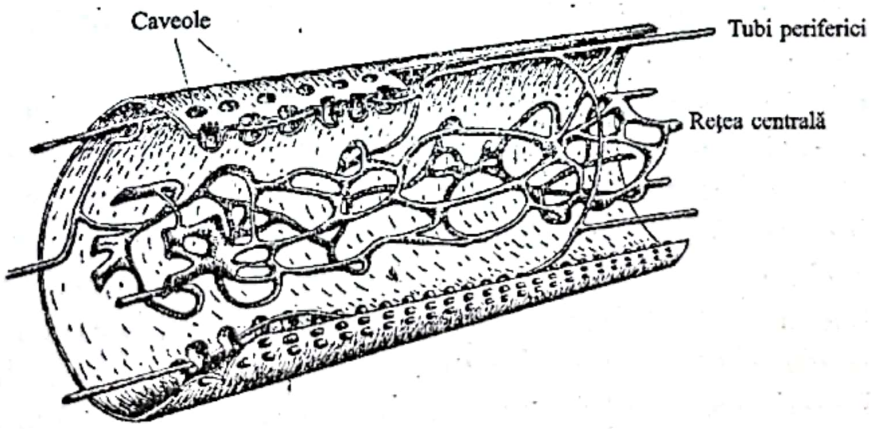


Fig. 4.17. ***Reprezentare tridimensională a organizării reticulului sarcoplasmic într-o fibră musculară netedă*** *(Popescu L.M., 1987)*

Scanned with OKEN Scanner

Ca *incluzii* în sarcoplasma fibrei musculare netede se evidenţiază glicogen şi lipide.

Glicogenul apare pe imaginile electronomicroscopice sub forma unor granule electronoopace, izodiametrice, de cca 25 nm. Granulele de glicogen se găsesc fie izolate, fie agregate în adevărate „plaje", care pot apărea oriunde în celulă, cu excepţia nucleului. Uneori cantitatea de glicogen poate fi extrem de mare. Spre exemplu, în cursul gestaţiei creşte de aproximativ *50 de ori în fibra netedă* uterină, ceea ce reprezintă o rezervă de energie necesară efortului contractil al travaliului din timpul parturiţiei.

Lipidele cu aspect de granule, apar mai ales în vecinătatea mitocondriilor.

Scanned with OKEN Scanner

5. ŢESUTUL NERVOS

Ţesutul nervos este de origine *ectoblastică*, format din *celule principale*, puternic specializate (*neuroni*) şi din *celule secundare (celulele nevroglice)*. Singurele celule care intră în structura ţesutului nervos şi care nu derivă din ectoderm sunt *celulele microgliei* ce aparţin SMM, cu rol de fagocitoză în ţesutul nervos şi care derivă din mezoderm. Denumirea de neuron pentru celula principală din ţesutul nervos a fost dată de către Waldeyer (1891). Principalele însuşiri ale neuronului care stau la baza funcţiilor ţesutului nervos sunt *excitabilitatea* şi *conductibilitatea*. Excitabilitatea este capacitatea de a răspunde rapid la diferiţi stimuli prin modificări complexe; ea are la bază *iritabilitatea* (însuşirea oricărei celule de a răspunde cu modificări structurale şi funcţionale la acţiunea unui excitant). Modificările metabolice ale neuronului, produse de acţiunea stimulilor generează *influxul nervos*. Prin *conductibilitate* (funcţie specializată a neuronului) se transmite influxul nervos la alţi neuroni sau la alte celule efectoare (musculare şi glandulare). Neuronii formează prin conexiuni, numite *sinapse*, releuri de transmisie a influxului nervos. La nivelul fibrei musculare striate de tip scheletic, neuronul prin prelungirea sa (axon) stabileşte o joncţiune de tip special denumită *placa motorie*. De menţionat, faptul că neuronii secretă substanţe chimice (*mediatori chimici*) prin intermediul cărora ei acţionează asupra altor neuroni sau asupra efectorilor în general. Unii neuroni din scoarţa cerebrală au capacitatea de a prelucra, de a integra şi de a depozita informaţiile primite (*memoria*) pentru o perioadă mai lungă sau mai scurtă de timp. Alţi neuroni au capacitatea de a elabora secreţii (*neurosecreţii*); astfel se prezintă situaţia neuronilor din *nucleul supraoptic* (NSO) şi cel *paraventricular (NPV)*, de asemenea şi în cazul neuronilor din aria hipofiziotropă a hipotalamusului. Aceste neurosecreţii ajung în neurohipofiză prin intermediul filetelor nervoase (axonilor) fiind vorba de *neurocrinie*.

Celulele nervoase, împreună cu celulele gliale şi vasele sanguine formează *substanţa cenuşie* şi *albă* a organelor nervoase.

5.1. Histogeneza

Ţesutul nervos, cu excepţia microgliei are origine *ectoblastică*. Prin proliferarea ectoblastului embrionar, pe faţa dorsală se formează *placa neurală* care prin invaginare formează *şanţul neural*, iar prin închiderea acestuia, ia naştere *tubul neural* şi *crestele neurale* (fig. 5.1). Peretele tubului neural este format dintr-un neuroepiteliu care înconjoară un canal central, ce va deveni *canal ependimar*. Din epiteliul ce formează peretele tubului neural se vor diferenţia din stratul său mijlociu două tipuri de celule: *neuroblaste*, care vor evolua şi vor deveni *neuroni* şi *spongioblaste*, care vor deveni *celule gliale (nevroglii)*. Din spongioblaste se formează *astroblastele* care vor da naştere la *astrocite protoplasmatice* şi *fibroase* pe de o

Scanned with OKEN Scanner

parte, iar pe de alta, vor forma *celulele oligodendrogliei* (fig. 5.2). Din stratul intern al peretelui se vor forma *spongioblaste ependimare* care vor da naştere la *celule ependimare*. Din celulele crestelor neurale se vor diferenţia *neuronii organelor nervoase periferice* (ganglionii cranieni, rahidieni, vegetativi) şi *gliile periferice* ale acestor organe (ganglionară, endoteliformă, glia Schwann). Tot din celulele crestelor, prin migrare, rezultă populaţia celulară a paraganglionilor, medulosuprarenalei şi celulele cromargentafine.

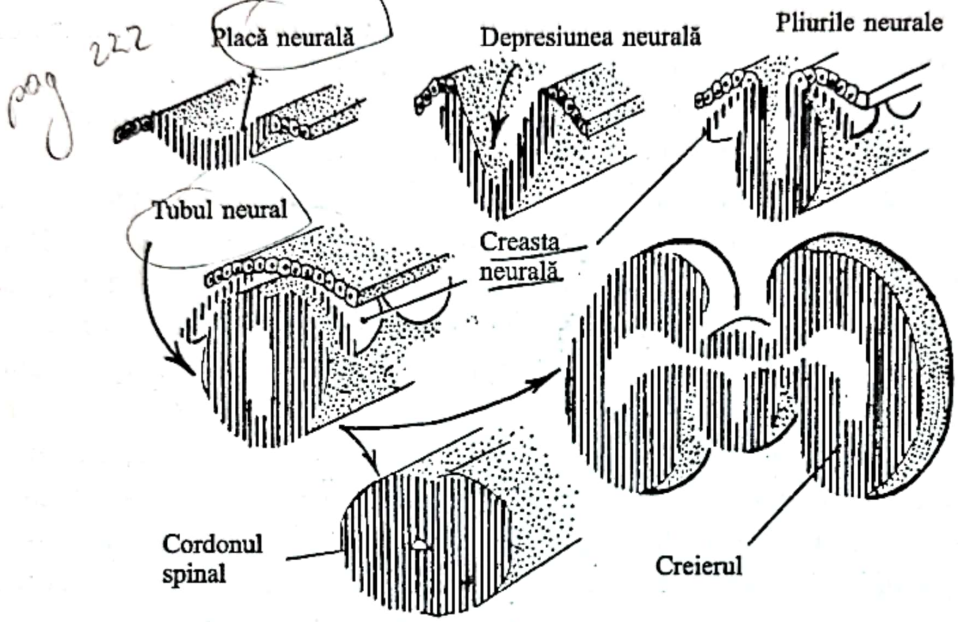


Fig. 5.1. ***Formarea plăcii neurale, tubului neural şi a crestelor neurale***

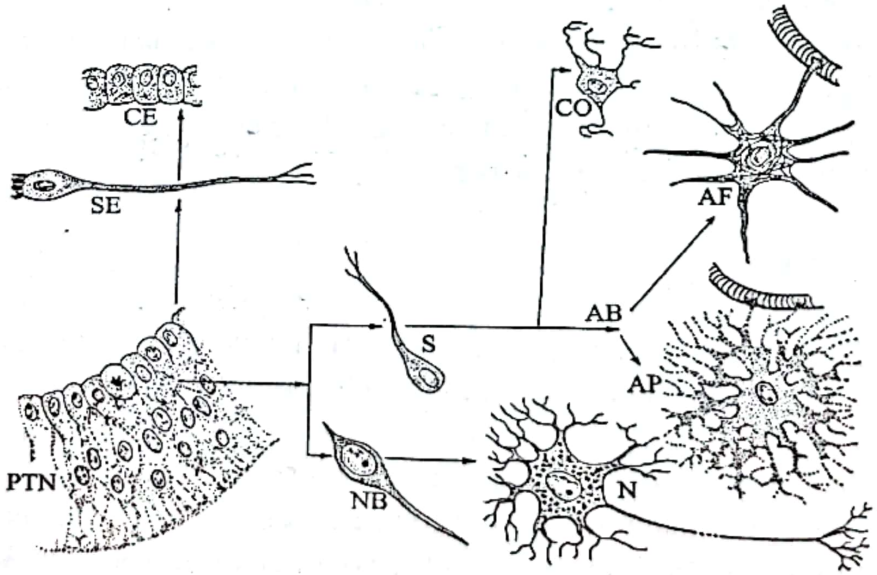


Fig. 5.2. ***Citogeneza celulelor sistemului nervos central***: PTN-peretele tubului neural; SE-spongioblastele ependimare; CE-celule ependimare; NB-neuroblaste; N-neuroni; S-spongioblaste; AB-astroblaste; AP-astrocit protoplasmatic; AF-astrocit fibros; CO-celule ale oligodendrogliei.

Scanned with OKEN Scanner

5.2. Neuronul

Este unitatea morfofuncțională specializată a țesutului nervos și reprezintă cea mai diferențiată celulă a organismului, ea pierzând capacitatea de a se multiplica după perioada embrionară de formare.

Neuronul prezintă un corp – *pericarionul* (de la grec. *carion* = sâmbure; masa de citoplasmă din jurul nucleului) din care se formează una sau mai multe prelungiri scurte și groase, ramificate arborescent – *dendritele* (de la grec. *dendros* = arbore) și o prelungire unică, lungă, subțire – *axonul* (fig. 5.3).

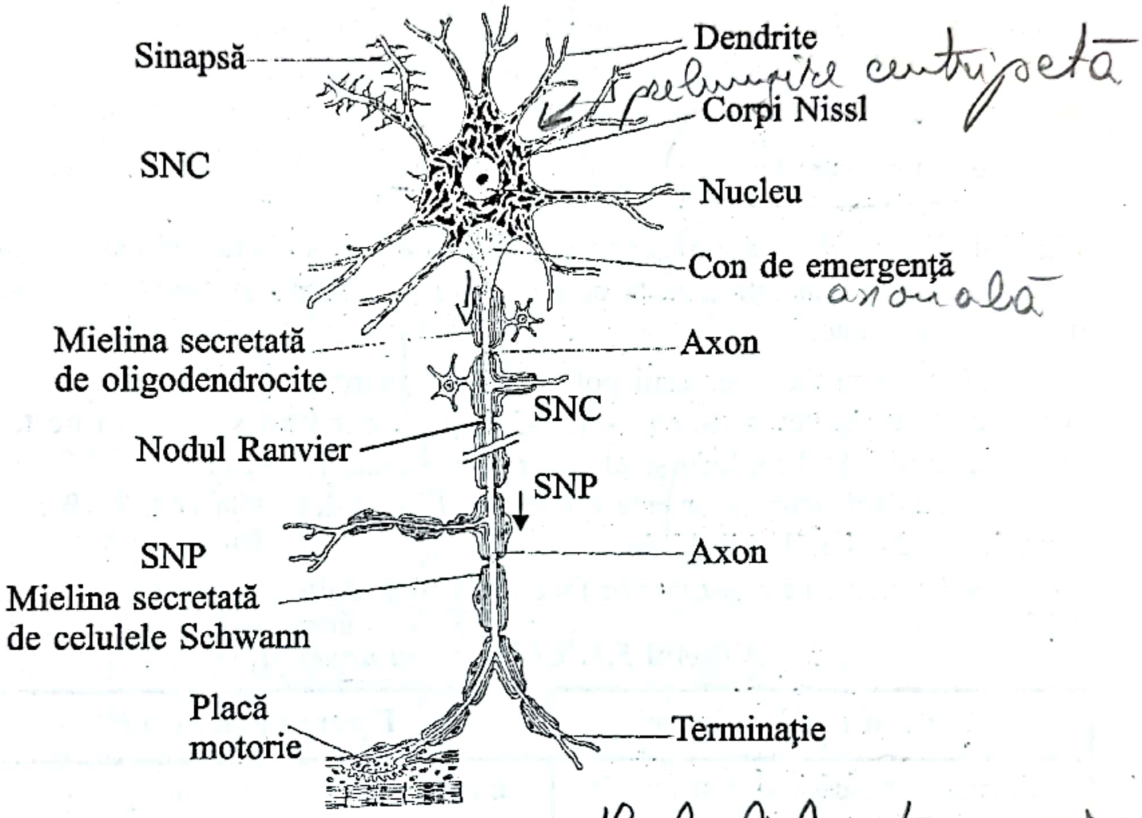


Fig. 5.3. ***Neuron multipolar***. Teaca de mielină este produsă de oligodendrocite în sistemul nervos central (SNC) și de celulele Schwann în sistemul nervos periferic (SNP). Săgeata indică sensul impulsului nervos (Liebich și colab., 1999).

Dendritele sunt prelungiri *centripete* (celulipete), transmit influxul nervos spre pericarion, iar axonul este o prelungire *centrifugă* (celulifugă), ce transmite influxul nervos de la pericarion la dendritele sau pericarionul altui neuron sau la organele efectoare (fibra musculară scheletică, celula glandulară). Axonul, uneori este foarte lung, depășind 1 m (în funcție de talia animalului) în cazul neuronilor motori din coarnele ventrale ale măduvei rahidiene.

Pericarionul are forme și dimensiuni variate.

Forma neuronului poate fi variată: *ovalară, sferică* (neuronul pseudounipolar), *fusiformă, piriformă* (celula Purkinje), *piramidală* (celulele piramidale), *stelată, poliedrică* şi *neregulată* (fig. 5.4).

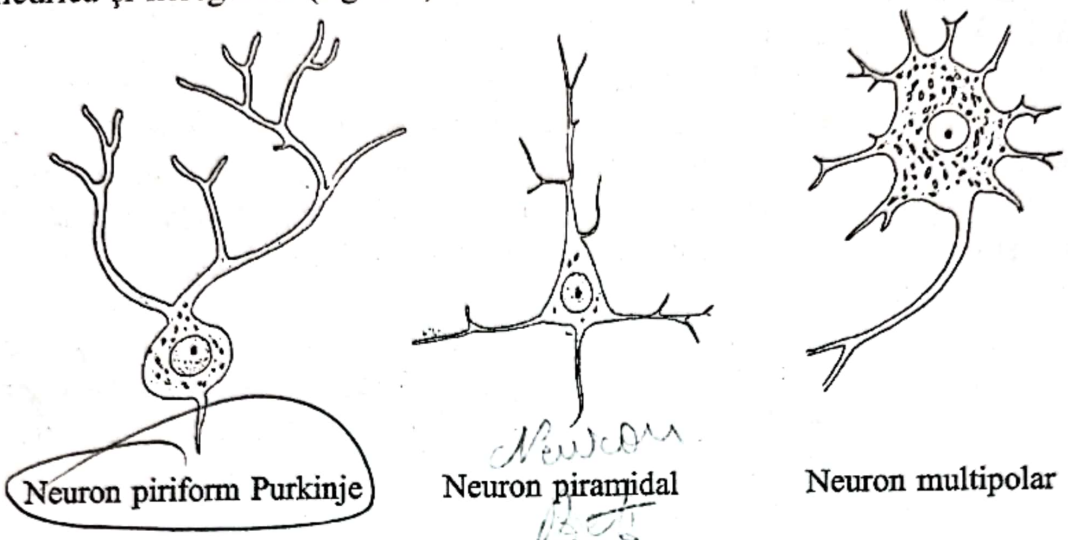


Fig. 5.4. ***Forme de neuroni***: *piriform* (Purkinje din scoarţa cerebelară), *piramidal* (neuronul piramidal din scoarţa cerebrală), *multipolar stelat* din cornul ventral al măduvei rahidiene.

Dimensiunile. Neuronii pot fi de talie mare (neuronii motori din coarnele ventrale ale măduvei rahidiene - 150-200 μm), dar sunt şi neuroni de talie mică (neuronii din stratul molecular al scoarţei cerebrale (5-6 μm).

Numărul neuronilor este enorm, el fiind calculat la cca. 8-10 miliarde la animale şi 12-14 miliarde la om.

Clasificarea neuronilor se face după mai multe criterii (tabelul 5.1).

Tabelul 5.1. ***Clasificarea neuronilor***

Criterii de clasificare	Tipuri de neuroni
1.Forma pericarionului şi număr de prelungiri	unipolari pseudounipolari bipolari multipolari (stelaţi, piriformi, piramidali)
2.Topografie	centrali periferici
3.Funcţia pe care o îndeplinesc	motori senzitivi de asociaţie secretori
4.Sistemului nervos căruia îi aparţin	ai sistemului nervos central ai sistemului nervos vegetativ
5.Lungimea axonului	Golgi I (axon foarte lung) Golgi II (axon foarte scurt)

Scanned with OKEN Scanner

După criteriul morfologic, care ia în considerare numărul prelungirilor, neuronii se clasifică în: *unipolari, pseudounipolari, bipolari* şi *multipolari.*

Neuronii unipolari se caracterizează printr-o singură prelungire denumită axon, ei sunt foarte rari.

Neuronii pseudounipolari sunt celule localizate în ganglionul rahidian. Ei au forma sferică, nucleul mare, rotund şi localizat central. Neuronul pseudounipolar are o singură prelungire, care efectuează câteva bucle în jurul corpului celular şi apoi se ramifică în T, în afara capsulei, formate de celulele satelite *(amficite),* care sunt celule nevroglice, aplatizate ce încapsulcază pericarionul. Prelungirea în T are o ramură ce constituie axonul care pătrunde în SNC şi o ramură periferică ce are semnificaţia de dendrită şi care se arborizează la nivelul receptorului periferic. Deci, în cazul neuronului pseudounipolar este vorba de o *falsă unipolaritate,* deoarece iniţial în stadiul de neuroblast a fost bipolar, ca apoi în citogeneză, prelungirile să se alăture dând aspectul de pseudounipolar (fig. 5.5).

În acest caz, impulsul nervos merge direct de la periferie la SNC, scurtcircuitând pericarionul (fig. 5.6). Astfel, pericarionul neuronului pseudounipolar nu primeşte impulsuri nervoase, funcţia lui fiind preponderent trofică.

Neuronii bipolari au o formă ovalară sau fusiformă, având două prelungiri (o dendrită şi un axon). Aceşti neuroni se găsesc în retină, ganglionul lui Scarpa şi cel al lui Corti.

Neuronii multipolari reprezintă majoritatea celulelor nervoase, fiind stelaţi sau de aspect piramidal. Nucleul este mare, sferic, situat central şi prezintă un nucleol proeminent. Ei au un singur axon şi numeroase dendrite.

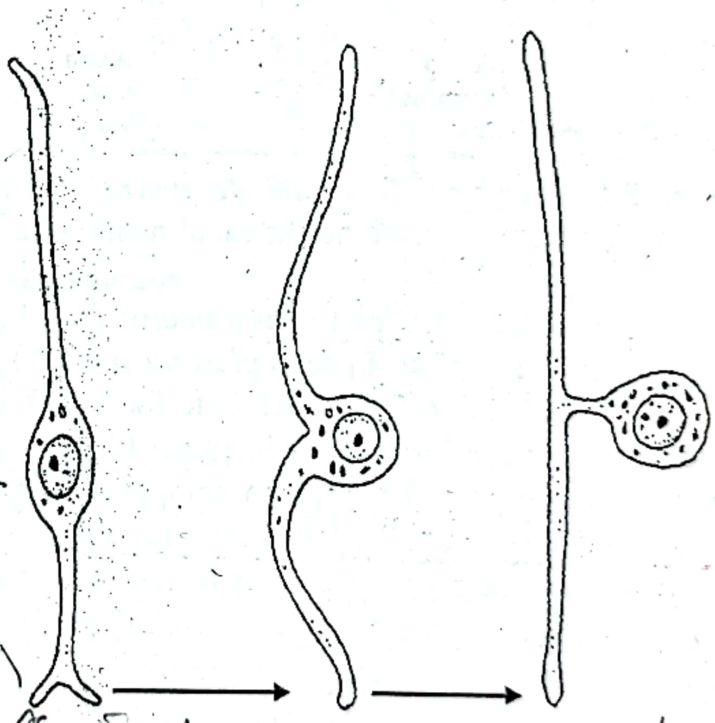


Fig. 5.5. ***Formarea neuronului pseudounipolar prin alipirea celor două prelungiri***

După criteriul funcţional, neuronii se clasifică în: *motori* care sunt de obicei multipolari, *senzitivi* care sunt bipolari, fiind situaţi în afara sistemului nervos central şi *de asociaţie* (interneuroni).

După lungimea axonului, neuronii se împart în: neuroni de *tip Golgi I* cu axonul lung (cca. 1 m) şi neuroni de *tip Golgi II,* caracterizaţi printr-un axon scurt care se ramifică în vecinătatea pericarionului (neuronii de asociaţie).

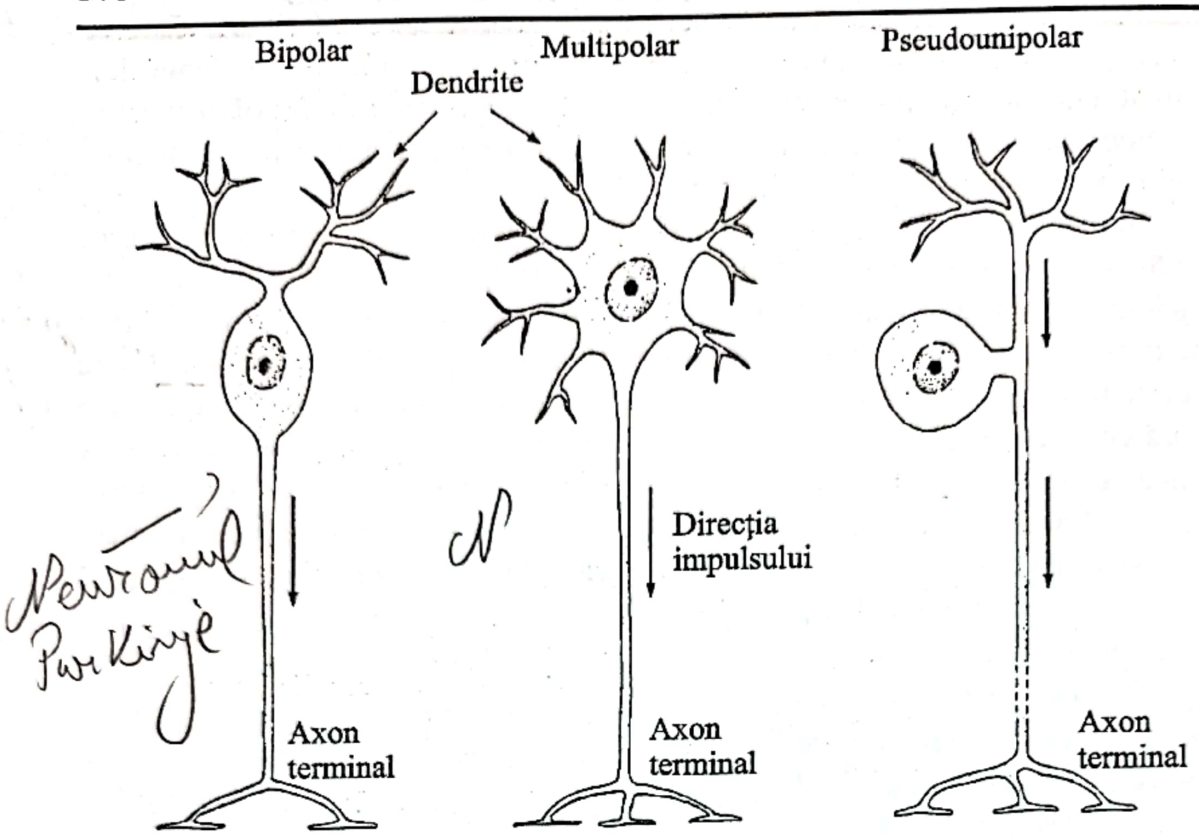


Fig. 5.6. ***Principalele tipuri de neuroni după prelungiri.*** Impulsul nervos scurtcircuitează pericarionul în cazul neuronului pseudounipolar

Structura şi ultrastructura neuronului. Acesta este format din: *membrană (neurolemă), citoplasmă (neuroplasmă)* şi *nucleu.*

Membrana (neurolema). Este foarte subţire pe toată suprafaţa (pericarion, prelungiri), exceptând zonele sinaptice. *Plasmalema pericarionului* are o organizare trilaminată de circa 7,5 nm şi o compoziţie *lipoproteică* similară cu membranele plasmatice întâlnite la celelalte tipuri de celule. Este caracteristică pentru membrana celulelor nervoase prezenţa unei bogate activităţi enzimatice ca ATP-aza pentru Na^+ şi K^+, precum şi a 5'-nucleotidazei. O parte importantă din glicoproteinele din membrană, reprezintă receptorii specifici.

Nucleul. Este mare, dispus central, rotund sau oval şi *eucromatic.* Cromatina pulverulentă, asociată la membrană şi nucleol, dă nucleului aspectul veziculos; *nucleolul,* de obicei unic, este voluminos. În neuronii din ganglionii simpatici, nucleul este localizat excentric. Cromatina este foarte fin dispersată reflectând intensa activitate de sinteză a acestei celule. La femele, între nucleol şi membrana nucleară internă se află *satelitul nucleolar (corpuscul Barr).* Aceasta este cromatina sexuală descoperită de Barr în celulele nervoase de pisică şi apoi identificată în toate tipurile de celule ale femelelor. Această cromatină reprezintă cromozomul X inactivat care rămâne condensat în interfază, denumit *heterocromatina facultativă gonozomică X.*

Scanned with OKEN Scanner

Citoplasma (neuroplasma). Având o vâscozitate variabilă, este abundentă în pericarion și se extinde în ambele tipuri de prelungiri. În neuroplasmă sunt bine reprezentate organitele: *aparatul Golgi, mitocondriile, reticulul endoplasmic granular (ergastoplasma – corpii Nissl), ribozomii, lizozomii, neurofilamentele, neurotubulii* (fig. 5.7) și incluziile.

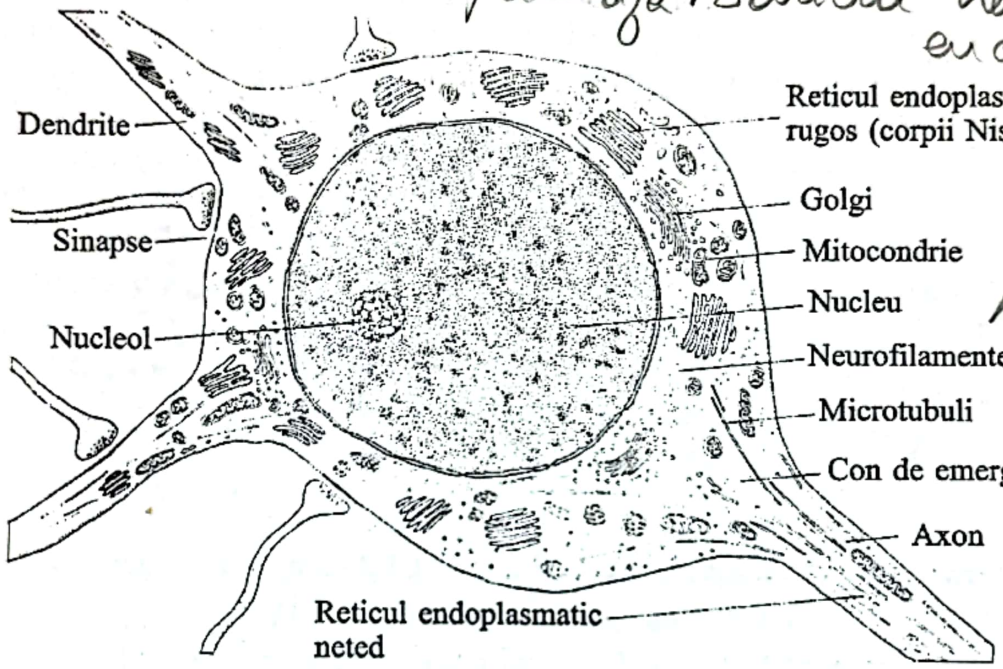


Fig. 5.7. ***Ultrastructura neuronului***

Aparatul Golgi este localizat numai în pericarion, în jurul nucleului. De obicei, aparatul Golgi studiat la microscopul electronic constă în principal din saci aplatizați, dispuși paralel, cu mai multe localizări în jurul nucleului. El mai conține, de asemenea, un număr de vezicule sferice, care reprezintă atât vezicule de transfer cât și secretorii. Câteva elemente ale reticulului endoplasmic neted se pot observa în zona Golgi.

Mitocondriile sunt mici, ușor alungite, cu matricea densă și cu rare criste transversale. Mitocondriile sunt răspândite în citoplasma întregului pericarion și în prelungiri, fiind deosebit de abundente în terminațiile axonale *(butoni terminali, componenta presinaptică).*

Lizozomii: autolizozomii sunt numeroși, implicați în procesele de autoreînnoire celulară; *heterolizozomii,* cu rol în înglobarea mediatorilor chimici, sunt mai reduși cantitativ; *corpii reziduali* se acumulează cu vârsta în pericarion, ca pigment de uzură *lipofuscinic.*

Neurofilamentele, neurotubuluii, microfilamentele de actină și cele ale citoscheletului membranic, rețeaua microtrabeculară constituie citoscheletul neuronului.

5.2.1. Corpii Nissl (corpii tigroizi, ergastoplasma)

Apar în coloraţia Nissl în citoplasma pericarionului şi în porţiunea iniţială a dendritelor (fig. 5.8), dar lipsesc în axon şi în zona în care se formează axonul structurând o regiune de aspect clar *(conul de emergenţă axonală).*

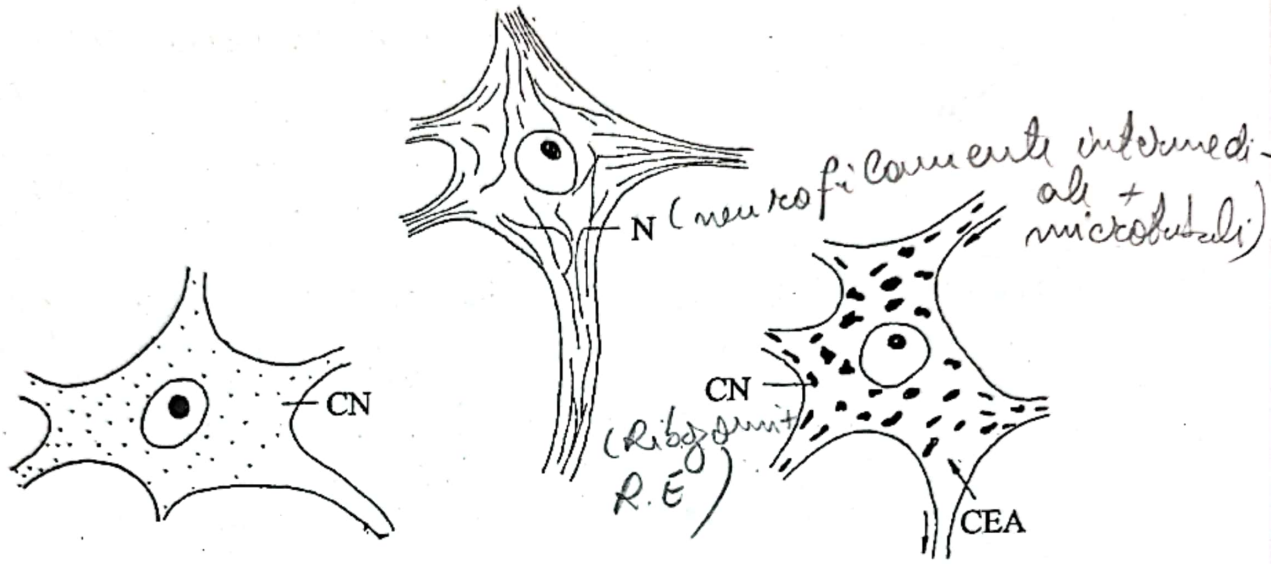


Fig. 5.8. ***Neuroni multipolari***: CN-corpii Nissl; CEA-con de emergenţă axonală; N-neurofibrile (neurofilamente agregate de agenţii fixatori).

Prof. Gh. Marinescu, care a studiat ergastoplasma celulei nervoase în stări normale şi patologice, a constatat că maturarea funcţională a neuronilor corespunde cu dezvoltarea corpilor tigroizi, că în solicitările funcţionale intense ergastoplasma se reduce cantitativ, în celulă predomină forma granulară (fenomen denumit *cromatoliză)* şi că procesele reparatorii sunt marcate prin refacerea corpilor tigroizi. Suferinţele neuronilor provoacă alterarea şi dezorganizarea ergastoplasmei manifestată prin *tigroliză* (liza corpilor tigroizi), stare de cele mai multe ori ireversibilă.

Numărul şi aspectul corpilor Nissl (granule, blocuri , suprafeţe neregulate) variază după tipul de neuron şi după starea funcţională. Ei sunt foarte abundenţi în celulele nervoase mari cum sunt neuronii motori din măduva rahidiană. Corpii Nissl reprezintă elemente ale reticulului endoplasmic granular, care apare organizat în agregate de cisterne paralele, printre care se remarcă numeroşi poliribozomi.

5.2.2. Neurofilamentele

Sunt microfilamente intermediare cu diametrul de 10 nm, alcătuite din trei subunităţi proteice, cu greutăţi moleculare diferite. Ele pot fi aglutinate, ca urmare a acţiunii fixatorilor histologici, devenind vizibile la MO, îndeosebi după impregnare

cu săruri de argint şi sunt denumite *neurofibrile* (vezi fig. 5.8). Astfel, neurofibrilele nu reprezintă altceva decât *neurofilamentele agregate* de către agenţii fixatori şi colorate cu săruri metalice. În anumite condiţii, neurofilamentele pot fi observate şi în celulele vii, în culturile de celule. Aceasta este posibil datorită faptului că ele se grupează în fascicule paralele, apropiate strâns între ele, pentru că altfel grosimea fiecăruia dintre ele se află sub limita de rezoluţie a MO. Şiruri de neurofilamente încrucişate traversează grămezile de reticul endoplasmatic rugos sau de polizomi şi, ca urmare fragmentează substanţa bazofilă în grămezi discrete care se prezintă, după coloraţii corespunzătoare, sub aspectul *„tigrat" al corpilor Nissl.*

Citoplasma neuronului cuprinde de asemenea diferite tipuri de complexe proteice în care proteinele majoritare sunt *tubuline, actine, spectrine* şi *proteinele asociate* lor.

Acestea se află sub formă de subunităţi libere (*dimeri de tubulină alfa şi beta, actina globulară* –AG; *dimeri de spectrină*) în citosolul celular (alcătuind „fondul de rezervă" din care se edifică, după nevoie, noi structuri citoscheletale), fie sub formă de elemente citoscheletale ca *neurotubulii* sau *microfilamentele de actină* şi de *spectrină* din scheletul membranei neuronale.

5.2.3. Neurotubulii

Sunt asemănători cu microtubulii celorlalte tipuri de celule, au diametrul de aproximativ 25 nm şi sunt alcătuiţi din subunităţi de *alfa-* şi *beta-tubulină.* Tubulina pare a fi egal distribuită în axoni ca şi în corpul şi dendritele unor anumiţi neuroni. Neurotubulii joacă un rol esenţial atât în extinderea şi menţinerea prelungirilor neuronale cât şi în transportul organitelor citoplasmatice intraneuronale. Transportul organitelor în lungul microtubulilor are loc cu ajutorul unei *proteine translocatoare* (ce face parte din grupul aşa-numitelor *proteine asociate microtubulilor* sau MAP), care are funcţie ATP-azică. În alte tipuri de celule, proteina ATP-azică *este dineina.* Proteina translocatoare din celula nervoasă este diferită atât de miozină cât şi de dineină. Această proteină, denumită *kinezină* (gr. *kinein* = a mişca), are un segment (o extremitate) care se leagă de organitul care trebuie transportat şi o altă porţiune care interacţionează ciclic cu microtubulii, pentru a produce translocarea mecanică a organitului în lungul neurotubulilor.

5.2.4. Incluziile

Citochimic, în neuroni s-au evidenţiat ca incluzii: *lipide* sub formă de mici picături, *granule de glicogen* şi *granule de pigment.*

În unele zone ale sistemului nervos central, pericarionii conţin granule de pigment *brun-închis* sau *negru.* Astfel de zone se întâlnesc în nucleul motor dorsal al vagului, în ganglionii rahidieni şi în ganglionii simpatici.

Scanned with OKEN Scanner

Un alt pigment prezent uneori în corpul celulelor nervoase este *lipofuscina* care este un pigment *brun-închis,* care conţine lipide ce se acumulează în cantitate din ce în ce mai mare odată cu vârsta. Aceasta reprezintă un material rezidual nedigerat de lizozomi *(corpi reziduali).*

5.2.5. Dendritele

Cele mai multe celule nervoase au numeroase dendrite, care sporesc considerabil suprafaţa receptoare a celulei. Ramificaţiile dendritice oferă posibilitatea ca un singur neuron să primească şi să integreze impulsurile de la un mare număr de terminaţii axonale aparţinând unor celule nervoase foarte diferite. Se apreciază că cca. 200000 de terminaţii axonale din stratul granular stabilesc contacte funcţionale cu dendritele unei celule Purkinje din scoarţa cerebeloasă. Neuronii cu o singură dendrită (neuroni bipolari) sunt rari şi se găsesc numai în zone speciale. Spre deosebire de axoni, care au diametrul relativ constant de la un capăt la altul, dendritele devin din ce în ce mai subţiri pe măsură ce se subdivid prin ramificaţie.

Citoplasma dendritelor este foarte asemănătoare cu cea a pericarionilor; totuşi dendritele sunt lipsite de elemente Golgi. Corpii Nissl şi mitocondriile sunt prezente, cu excepţia dendritelor foarte fine. Neurotubulii (de 25 nm) sunt numeroşi în dendrite, la fel şi neurofilamentele (de10 nm). Dendritele sunt scurte şi se divid asemenea ramurilor unui arbore. În unele cazuri, totuşi, ele prezintă alte forme caracteristice – ca de exemplu, dendritele celulelor Purkinje din cerebel, care se ramifică într-un singur plan, luând forma de evantai. De obicei, dendritele sunt acoperite de un mare număr de spini, care sunt mici proeminenţe ce constituie locuri de contacte sinaptice.

5.2.6. Axonul

Fiecare neuron are un singur *axon;* el este o prelungire cilindrică, ale cărui lungime şi diametru variază după tipul de neuron. Cu toate că există şi unii neuroni cu axoni scurţi, de obicei axonii sunt prelungiri celulare foarte lungi. De exemplu, axonii neuronilor motorii din măduva rahidiană care inervează muşchii membrului pot avea peste 1 m, în funcţie de talia animalului.

Axonii pornesc dintr-o regiune în formă de piramidă mică, denumită *con de emergenţă,* care de obicei se află localizat la nivelul pericarionului, însă în unele cazuri se află şi la rădăcina dendritei principale. Conul de emergenţă axonală se poate deosebi de cel al dendritei prin:

a) lipsa corpilor Nissl (reticulul endoplasmic rugos şi ribozomii prezenţi în neuroplasma pericarionului şi dendritelor nu trec în conul de emergenţă axonală);

b) neurotubulii sunt grupaţi în mănunchiuri sau fascicule (fig. 5.9).

Scanned with OKEN Scanner

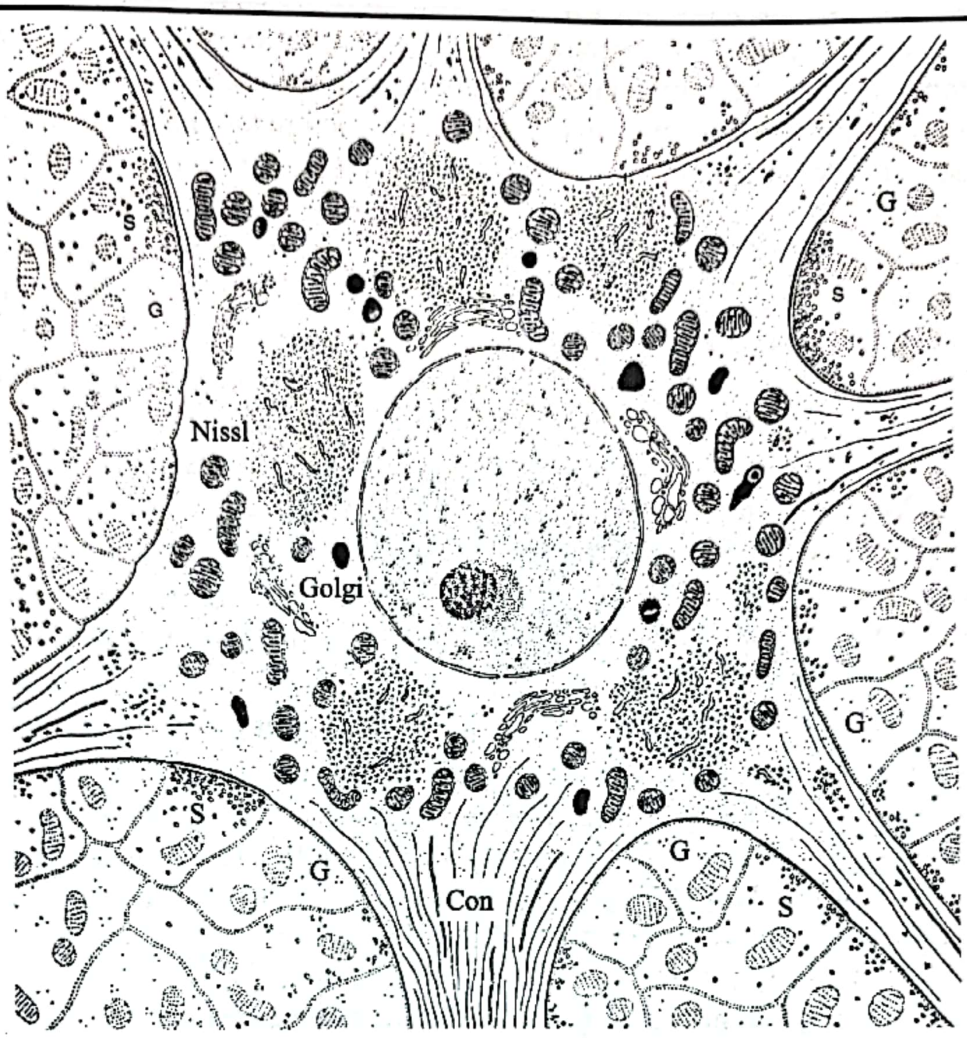


Fig. 5.9. ***Gruparea neurotubulilor în fascicul la nivelul conului de emergenţă axonală*** *(Junqueira şi colab., 1998)*

Membrana plasmatică axonală este denumită *axolemă* iar conţinutul său – *axoplasmă,* împreună structurează *neuritul.*

Axolema este prelungirea membranei plasmatice de la suprafaţa pericarionului, care asigură conducerea influxului în lungul fibrei, prin modificări de potenţial.

Citoplasma axonală (axoplasma) conţine puţine *mitocondrii, neurotubuli* şi *neurofilamente* precum şi un rar *reticul endoplasmic neted,* sub formă de vezicule şi cisterne. Cantitatea redusă de organite citoplasmatice explică nivelul scăzut al activităţii de sinteză prezentă în axon.

Neurotubulii sunt elementul structural predominant în axonul matur. Densitatea lor creşte în cursul diferenţierii axonilor. Printre neurotubuli se evidenţiază mitocondrii orientate cu diametrul mare pe direcţia axonului.

Neurofilamentele apar printre neurotubuli.

Numărul şi repartiţia *mitocondriilor* dintr-un anumit axon sunt un indicator al nivelului activităţii metabolice aerobe din neuritul respectiv. Frecvenţa mitocondriilor este mai mare în axonii tineri.

Scanned with OKEN Scanner

Reticulul endoplasmic neted (REN) formează o rețea de membrane în formă de cisterne sau de tubuli, orientate longitudinal și distribuite relativ uniform în axon. Această rețea membranară prezintă elemente de contiguitate în lungul axonului, care stabilesc contacte cu membranele mitocondriale și cele ale corpilor multilamelari.

Corpii multiveziculari, corpii multilamelari și granulele dense mari sunt grupate în așa-numiții *corpi denși*. Funcția acestor organite nu este clară. *Granulele dense* mari ar putea fi un organit catabolic intermediar în care ar fi reciclate elementele membranoase. *Corpii multilamelari,* se consideră că transportă retrograd rămășițele mitocondriale iar *corpii multiveziculari* conțin și transportă veziculele înglobate prin endocitoză.

5.2.6.1. Fibra nervoasă

Fibrele nervoase sunt reprezentate de *axonii* sau *dendritele* neuronilor și se clasifică după o serie de criterii (tabelul 5.2).

Fibra nervoasă este formată din:

- axoplasmă
- axolemă
- tecile
  - de mielină
  - Schwann
  - Kay-Retzius (Henle)

Tabelul 5.2. ***Clasificarea fibrelor nervoase***

Criterii de clasificare	Tipuri de fibre nervoase
1. Prezența sau absența tecii de mielină	cu teacă de mielină amielinice
2. Topografie	centrale periferice
3. Funcția pe care o îndeplinesc	motorii senzitive de asociație
4. Sistemului nervos căruia aparțin	somatice vegetative

Pentru o prezentare didactică a fibrei nervoase, după ce s-a descris neuritul (axoplasma și axolema) se descrie teaca Schwann.

Celulele Schwann sunt alungite 80-600 µm, uneori 1000 µm, prezintă nuclei alungiți, dispuși paralel cu axonul. Ca și teaca de mielină, celulele Schwann iau o formă cilindrică. Nodurile Ranvier care sunt indentații ale tecii de mielină, sunt

acoperite de întrepătrunderea unor procese digitiforme de la celulele Schwann adiacente (fig. 5.10).

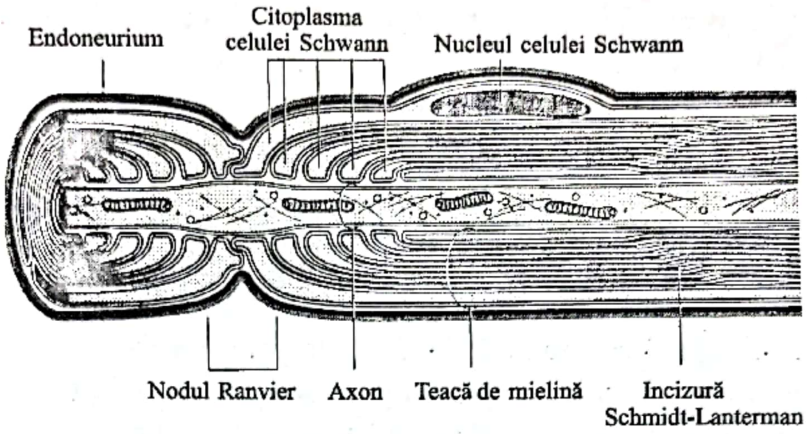


Fig. 5.10. ***Prelungirile digitiforme ale celulelor Schwann în zona nodulului Ranvier***

În *sistemul nervos central* nu se află celule Schwann. Aici teaca de mielină este formată de *oligodendrocite.* Spre deosebire de celulele Schwann, mai multe prelungiri ale oligodendrocitelor sunt trimise pentru a edifica teaca de mielină în jurul mai multor axoni (fig. 5.11). Oligodendrocitele nu trimit prelungiri digitiforme pentru a acoperi zona nodului Ranvier, care rămâne descoperită în sistemul nervos central.

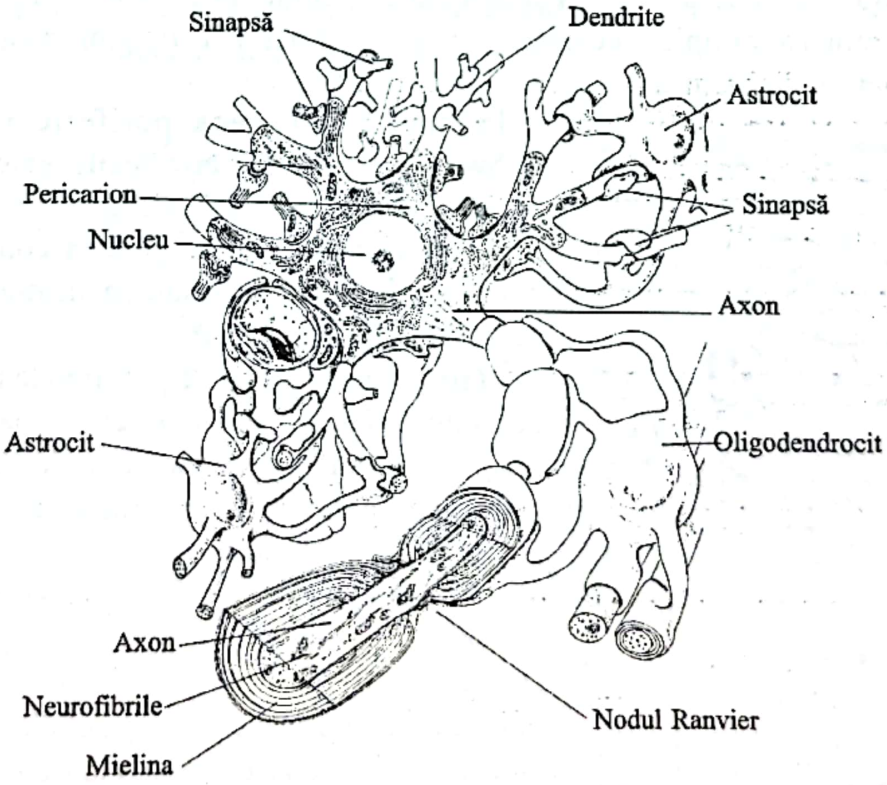


Fig. 5.11. ***Formarea tecii de mielină de către oligodendrocite în sistemul nervos central*** *(Liebich şi colab., 1999)*

Scanned with OKEN Scanner

Celula Schwann îndeplineşte rol de *protecţie, secreţie* şi *fagocitoză.* Secreţia mielinei a fost demonstrată în culturi de ţesuturi, unde s-a observat modul în care celulele Schwann, prin rotire în jurul axonului, formează *lamelele concentrice de mielină.* Teaca Schwann însoţeşte neuritul până la ultimele sale ramificaţii.

Atât în sistemul nervos central cât şi în cel periferic, nu toţi axonii sunt înfăşuraţi în teci de mielină. În sistemul nervos periferic, toţi *axonii nemielinici* sunt înfăşuraţi în lame simple de celule Schwann. Spre deosebire de axonii mielinici, o celulă Schwann poate să înfăşoare mai mulţi axoni amielinici.

Fibra nervoasă periferică vegetativă (fibra Remack) este lipsită de teaca de mielină sau prezintă una foarte subţire, fără ştrangulaţii Ranvier.

Fibrele nervoase amielinice nu au noduri Ranvier, deoarece celulele Schwann învecinate se unesc prin prelungirile lor laterale pentru a forma o teacă continuă.

Teaca Schwann însoţeşte neuritul până la ultimele sale ramificaţii.

Teaca Kay-Retzius (Henle): ţesutul conjunctiv adiacent fibrelor nervoase este condensat şi bogat în substanţă fundamentală şi fibre elastice. Teaca are rol în permeabilitatea şi rezistenţa locală, însoţind neuritul până la ultimele sale ramificaţii.

Teaca de mielină este constituită din segmente cilindrice, dispuse cap la cap. Segmentele au lungimi de 80-600-1000 μm şi grosimi variabile, corelate cu lungimea şi grosimea neuritului. Segmentele sunt întrerupte (separate) prin spaţii denumite *ştrangulaţiile* (gâtuiturile, nodulii) *Ranvier.* În microscopia electronică, mielina este formată din numeroase lamele dispuse concentric, fiecare fiind constituită dintr-o membrană dublă: *una densă* şi *alta clară.* Chimic, mielina este un *complex lipoproteic:* lipide (fosfolipide, colesterol, cerebrozide) 60 % în membrana clară şi proteine în membrana densă.

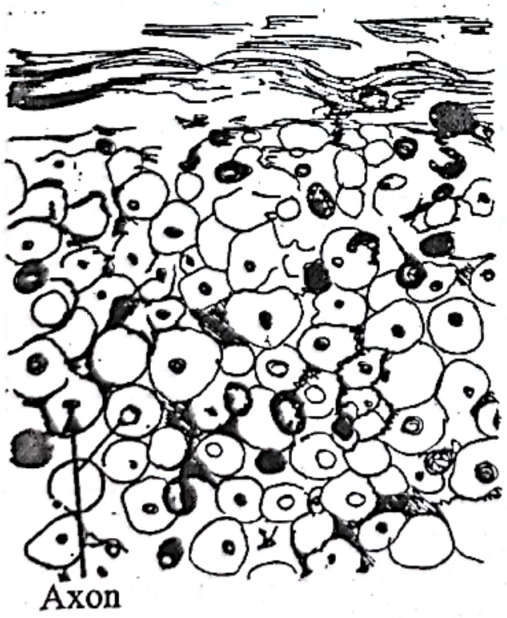


Fig. 5.12. ***Fibre nervoase pe secţiune transversală, col. H-E***

În sistemul nervos periferic celulele Schwann, care constituie tecile externe ale fibrelor nervoase, trimit prelungiri membranare lamelare care elaborează straturi concentrice compacte în jurul axonului, ce alcătuiesc aşa-numita *teacă de mielină.*

În secţiunile histologice prin fibrele nervoase colorate cu H-E, teaca de mielină apare ca un manşon gol, în timp ce cu tetraoxid de osmiu, axoplasma apare cenuşie-palidă, iar teaca de mielină se colorează în negru (fig. 5.12; 5.13).

Un axon periferic este înconjurat de mielina formată de un şir de celule Schwann, dispuse „în serie" de la un capăt la altul al fibrei nervoase, astfel încât fiecare celulă Schwann elaborează câte un tronson din teaca de mielină a axonului. Teaca de mielină prezintă

Scanned with OKEN Scanner

discontinuităţi în lungul său, denumite *noduri Ranvier* care reprezintă spaţiile dintre celulele Schwann adiacente din lungul axonului. La nivelul nodului Ranvier, membrana axonului (*axolema*) prezintă *un strat intern de material dens* la fluxul de electroni care formează o densificare subaxolemală. Segmentul de fibră nervoasă dintre două noduri este denumit segmentul *internodal* şi la acest nivel axonul este învelit de mielină şi de o singură celulă Schwann. Grosimea tecii de mielină variază după diametrul axonului însă este constantă pe parcursul unui anumit axon. Lungimea segmentului internodal variază între 80-600-1000 µm. La MO teaca de mielină prezintă scizuri de formă conică, denumite *scizurile Schmidt-Lantermann*. Ele reprezintă distanţări între membranele lamelor de mielină care se datorează unor mici acumulări de matrice citoplasmatică a celulelor Schwann. Aceste acumulări citoplasmatice de la nivelul scizurilor se deplasează în sus sau în jos pe teaca de mielină dintre două noduri. Teaca de mielină este un izolator electric, care accelerează conducerea impulsului nervos.

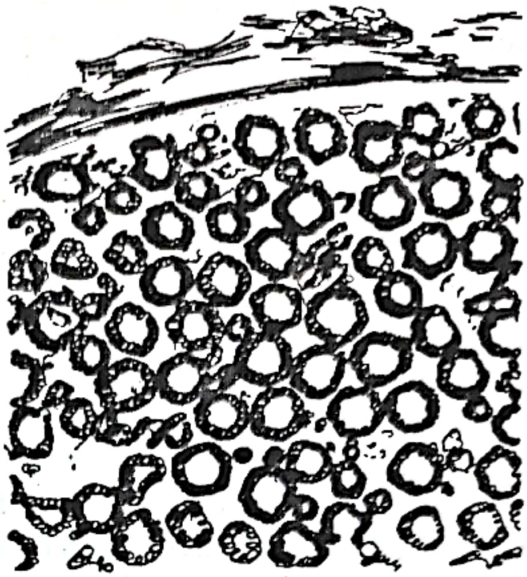


Fig. 5.13. ***Fibre nervoase pe secţiune transversală,*** *col. tetraoxid de osmiu*

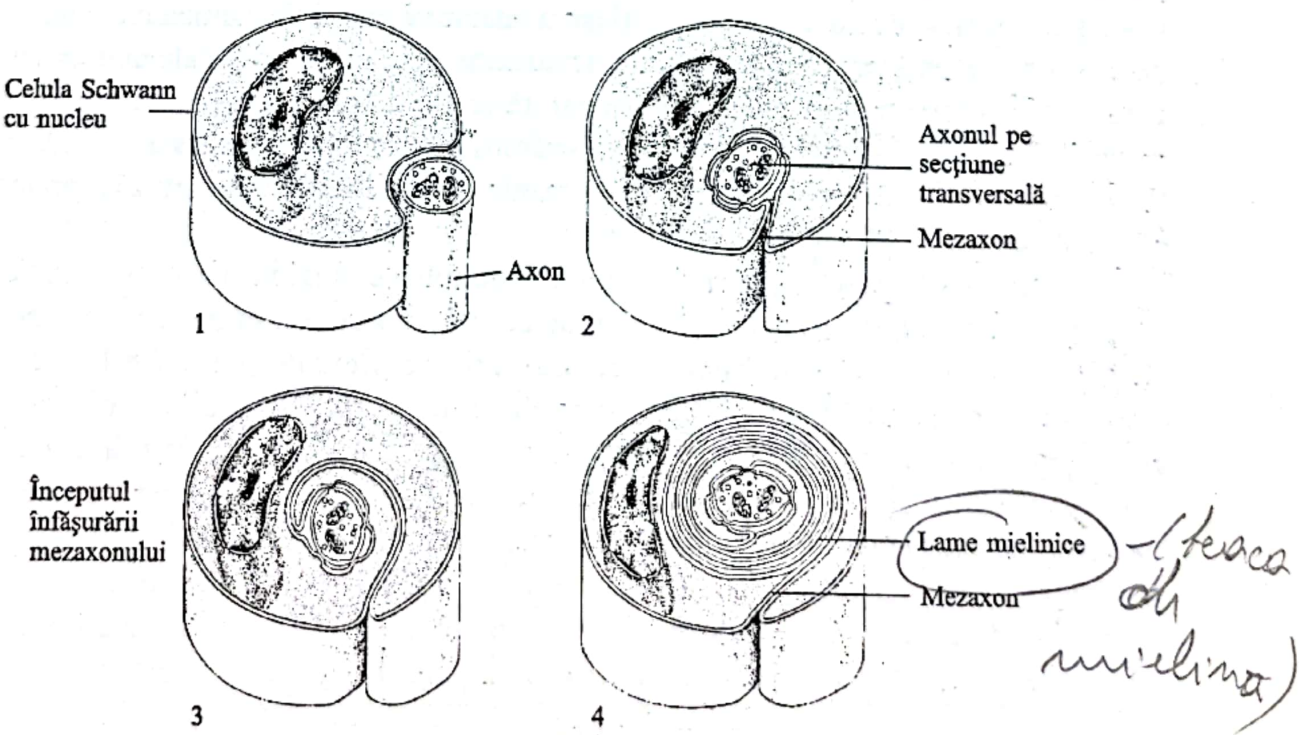


Fig. 5.14. ***Etapele mielogenezei*** *(Liebich şi colab., 1999).*

Mielogeneza. După cum s-a arătat, mielina este o structură membranară multilamelară compactă, sintetizată şi asamblată de *oligodendrocite* în *sistemul nervos central* şi de *celulele Schwann* în *sistemul nervos periferic.* Studiile de histogeneză au arătat că primul pas în formarea mielinei este reprezentat de pătrunderea axonului într-un şanţ făcut de citoplasma celulei Schwann. Marginile acestui şanţ se alătură pentru a alcătui un *mezaxon,* aşa încât membranele plasmatice ale celor două margini fuzionează între ele prin feţele lor externe.

În etapa următoare a mielogenezei, mezaxonul se înfăşoară în jurul axonului de mai multe ori. Numărul de înfăşurări determină numărul de lame mielinice (fig. 5.14). După ce procesul de formare a tecii de mielină s-a terminat, se poate recunoaşte un *mezaxon intern* şi unul *extern.*

Fragmentele citoplasmatice ce constituie scizurile Schmidt-Lantermann nu sunt altceva decât porţiuni mici de citoplasmă din celulele Schwann care au rămas în cursul înfăşurării lamelor mielinice.

5.2.6.2. Nervii

Cu excepţia câtorva nervi foarte fini, alcătuiţi din fibre nervoase amielinice, majoritatea nervilor periferici sunt alcătuiţi din fibre mielinice.

Nervii au un înveliş fibros extern de ţesut conjunctiv dens, denumit *epineurium* sau *epinevru,* care umple, de asemenea, spaţiile dintre fasciculele de fibre nervoase. Fiecare fascicul este înconjurat de un *perineurium* sau *perinevru,* o manşetă formată din fibrocite aplatizate, asemenea unor celule epiteliale. Fibrocitele din fiecare strat al tecii perineurale sunt legate între ele prin joncţiuni strânse, aranjament ce face ca perineuriumul să fie o barieră de trecere pentru mai multe tipuri de molecule. Sub teaca perineurală se află axoni acoperiţi de celule Schwann şi de elemente conjunctive care constituie *endoneurium* sau *endonevru.* Elementele conjunctive ale endonevrului constau din *membrane bazale,* care înconjură tecile de celule Schwann, şi *fibre de reticulină* care constituie împreună aşa-numitele *teci Kay-Retzius (Henle).* Atât fibrele de reticulină cât şi membranele bazale ale endonevrului sunt elaborate de celulele Schwann.

Nervii stabilesc legături de comunicaţie între *centrii nervoşi* şi *organele de simţ* sau *organele efectoare* (muşchi, glande etc.). Ei posedă fibre *aferente* şi *eferente* care fac legătura cu sistemul nervos central. Fibrele *aferente* (lat. *ad* = la; *ferre* = a conduce) transportă informaţiile obţinute din interiorul corpului sau din mediul extern, la centrii nervoşi. Fibrele *eferente* (lat. *ex* = în afară; *ferre* = a conduce) transmit impulsurile de la sistemul nervos central la organele efectorii aflate sub comanda acestor centri. Nervii care posedă numai fibre senzoriale (aferente) sunt denumiţi *nervii senzoriali;* cei alcătuiţi numai din fibre care transmit impulsuri efectorii sunt denumiţi *nervi motori.* Numeroşi nervi din organism au fibre atât motorii cât şi senzoriale, fiind denumiţi *nervi micşti* (ex. nervul rahidian, fig. 5.15).

Scanned with OKEN Scanner

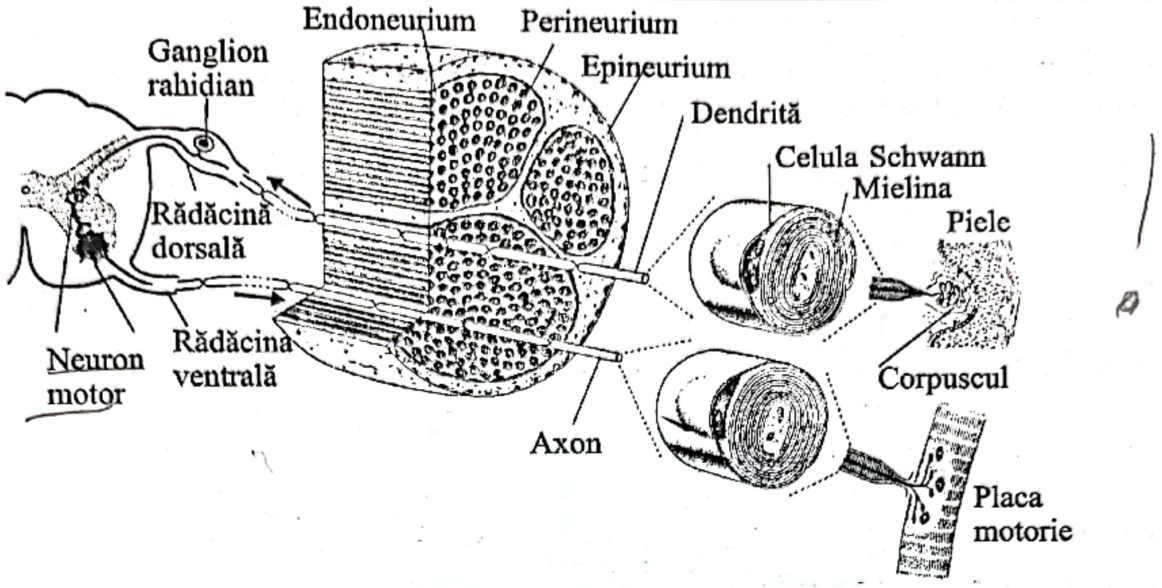


Fig. 5.15. ***Nervul rahidian este nerv mixt***: rădăcina dorsală este aferentă senzitivă (dendritele neuronului pseudounipolar din ganglionul rahidian); rădăcina ventrală este efectoare, motorie (axonii neuronilor motorii din coarnele ventrale ale măduvei rahidiene) care realizează *plăcile motorii (sinapsele neuromusculare).*

5.2.6.3. Degenerescenţa şi regenerarea fibrei nervoase

Degenerescenţa. Cauze diverse provoacă degenerescenţa fibrei nervoase, porţiunea dinspre pericarion – *degenerescenţa retrogradă* sau cea dinspre capătul distal – *degenerescenţă valleriană* (descrisă de Waller, 1852). Degenerescenţa se manifestă prin pierderea excitabilităţii, urmată de modificări morfologice în *pericarion (hipertrofie, cromatoliză, vâscozitatea citoplasmei, cariorexis* şi *carioliză)* sau în segmentul distal al axonului *(fragmentarea neurotubulilor* şi *microfilamentelor, degenerarea* şi *fragmentarea mielinei).*

Regenerarea. Este condiţionată de menţinerea sau refacerea integrităţii funcţionale a pericarionului, extinderea leziunii, îndepărtarea din teritoriul lezionat a resturilor degenerate, refacerea tecii de mielină. Resturile tisulare din plagă sunt fagocitate de *celulele Schwann, macro-* şi *microfage.* Redobândirea activităţii pericarionului este marcată de reapariţia corpilor tigroizi, urmată de sinteză, asigurând creşterea neuritului (a segmentului proximal al fibrei lezionate); creşterea este înceată (1 mm/zi), în strânsă relaţie cu comportarea celulelor Schwann. Celulele gliale Schwann, prin proliferare, formează *bandeletele lui Büngner* care unesc segmentele axonice, izolează spaţiul neuritului de mediul extern şi direcţionează înaitarea neuritului dinspre pericarion spre porţiunea distală. Înaintarea neuritului frânează proliferarea celulelor Schwann, care încep să sintetizeze mielină, refăcând local teaca (fig. 5.16). Când capetele secţionate rămân îndepărtate, celulele Schwann proliferează anarhic şi, împreună cu ţesutul conjunctiv din teaca Henle, pătrund între acestea formând *schwannoame* – tumorete dureroase, regenerarea fibrei nemaifiind posibilă.

Scanned with OKEN Scanner

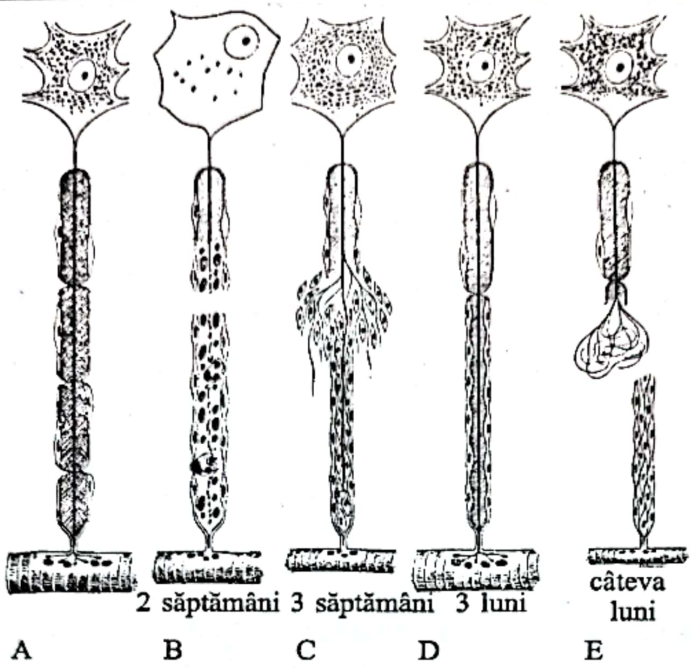


Fig. 5.16. ***Degenerescenţa şi regenerarea fibrei nervoase motorie***: A-fibră motorie normală cu pericarion integru; B-tigroliză masivă; C, D-regenerarea fibrei nervoase; E-când capetele rămân îndepărtate şi celulele Schwann nu se pot organiza, fibra nu se reface *(Junqueira şi colab., 1998)*

5.2.7. Sinapsa

Noţiunea de „sinapsă" (gr. *synapto* = a închide) a fost enunţată de Scherington, pentru a explica mecanismele speciale ale arcului reflex.

Morfologia sinapsei. A fost elucidată prin observaţii electronomicroscopice, completate de cunoaşterea organizării submicroscopice. Sinapsa cuprinde: *componenta presinaptică* – terminaţia axonului în formă de buton; *spaţiul sinaptic* şi *membrana postsinaptică* – *componenta postsinaptică* (fig. 5.17).

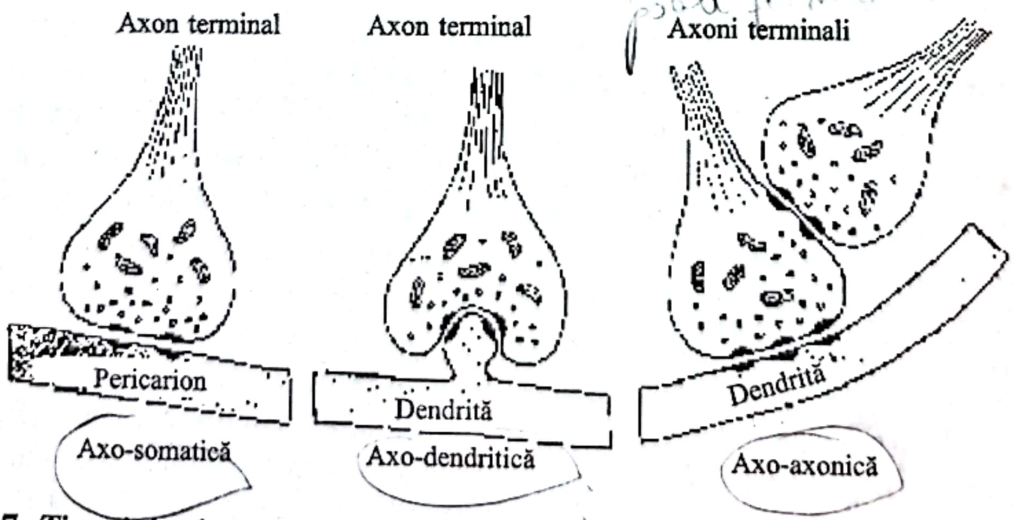


Fig. 5.17. ***Tipuri de sinapse.*** Axonul transmite impulsul nervos la pericarion (sinapsa axo-somatică), la o dendrită (sinapsa axo-dendritică), extrem de rar ia contactul cu alt axon (axo-axonică).

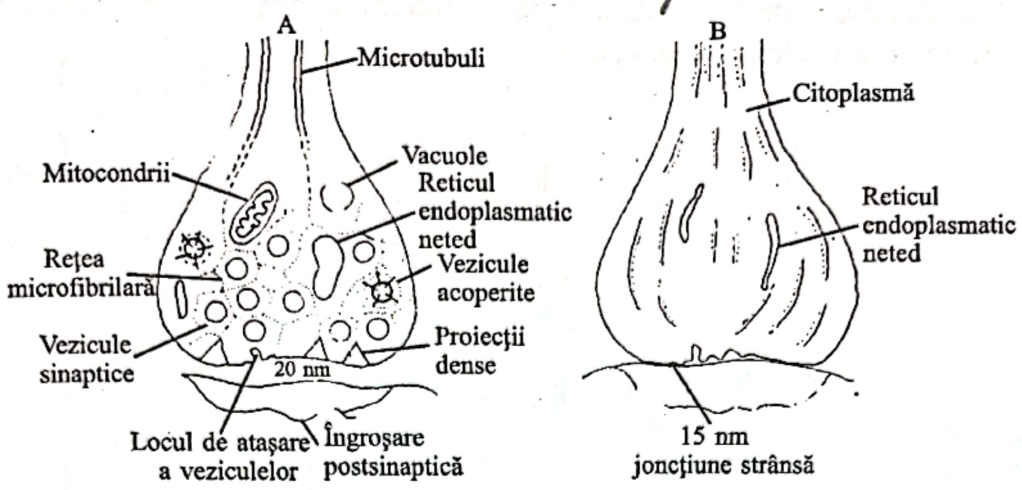


Fig. 5.18. ***Schema sinapsei chimice şi a sinapsei electrice***: A-sinapsa chimică; B-sinapsa electrică.

După mecanismul care stă la baza transmiterii impulsului nervos la nivelul joncţiunii se disting două tipuri de sinapse:

a) *sinapse chimice* care au la bază un mediator chimic;

b) *sinapse electrice* care se bazează pe transmiterea ionilor direct prin intermediul joncţiunilor de tip Gap, realizându-se astfel cuplarea electrică (fig. 5.18).

Sinapsele chimice se caracterizează prin prezenţa în butonul presinaptic a *veziculelor sinaptice,* cu un diametru de 20-65 nm, uneori chiar 160 nm, şi prin prezenţa unui *spaţiu intersinaptic* de circa 20 nm.

Butonul presinaptic, pe lângă *veziculele sinaptice,* mai conţine şi câteva *mitocondrii, vezicule acoperite, reticul endoplasmic neted,* sub formă de cisterne sau vezicule mari, precum şi un *citoschelet* reprezentat prin *neurotubuli* şi *neurofilamente* (fig. 5.19). În lungul spaţiului intersinaptic se află *„zona activă"* a butonului presinaptic, la nivelul căreia veziculele stabilesc contacte cu membrana presinaptică şi eliberează *mediatorii chimici* în spaţiul intersinaptic.

Există corelaţie între aspectul veziculelor din butonul presinaptic şi funcţia sinapsei respective. Astfel, se consideră că în sistemul nervos central, sinapsele care conţin vezicule presinaptice *rotunde* sunt *sinapsele excitatorii* iar cele care conţin vezicule *turtite* sunt *inhibitorii* (tabelul 5.3).

Sinapsele colinergice (mediator chimic *acetilcolina*) conţin în butonul terminal vezicule clare, cu diametrul constant de 40 nm, cele *adrenergice* (mediator – *noradrenalina*) au vezicule de 50 nm, cu un conţinut dens la fluxul de electroni, iar cele cu vezicule mari, cu diametrul de cca 100 nm şi cu conţinut dens sunt considerate sinapse ce conţin *neuropeptide.*

Se consideră că membranele veziculelor presinaptice sunt *reciclate* printr-un proces de exocitoză cuplat cu endocitoza. Astfel, după ce mediatorii chimici sunt exocitaţi în spaţiul intersinaptic, membranele veziculelor exocitate sunt modulate

şi se deplasează pe laturile butonului presinaptic, unde are loc procesul de endocitoză, adică de formare a veziculelor acoperite.

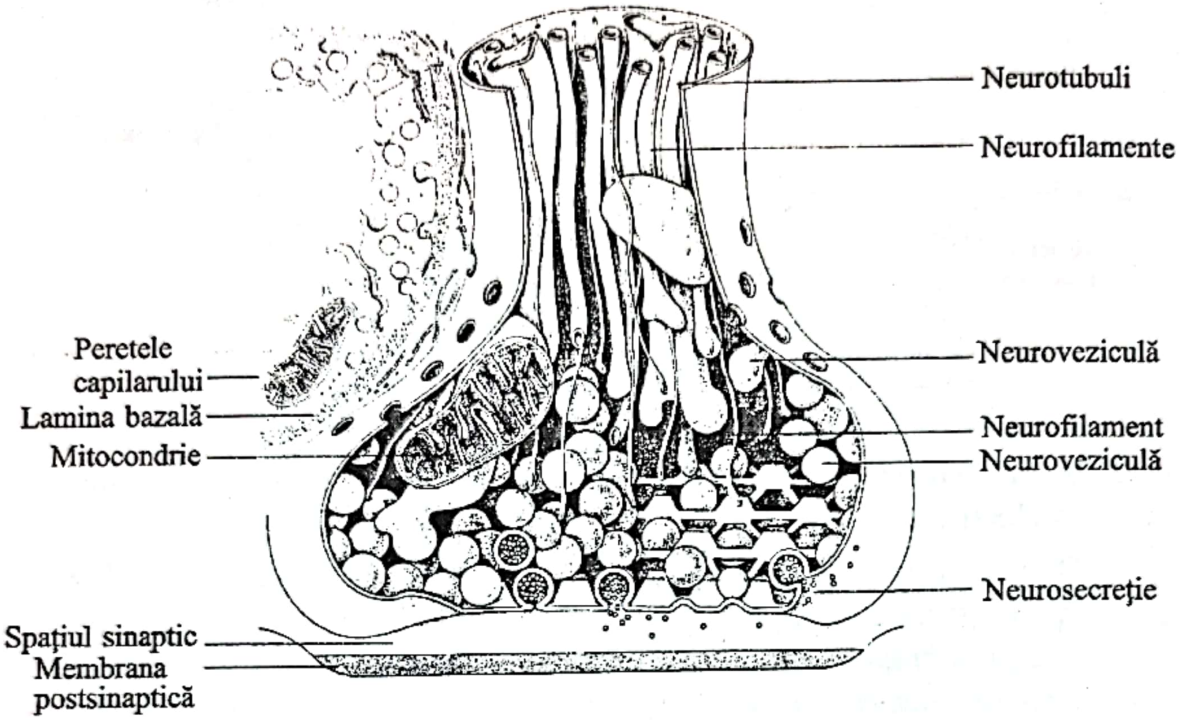


Fig. 5.19. ***Sinapsa la ME*** (raportul butonului terminal cu un capilar sanguin), *(Liebich şi colab., 1999)*

Mediatorii chimici sunt eliberaţi în spaţiul intersinaptic şi se leagă de *receptorii specifici* din membrana postsinaptică ceea ce provoacă o creştere locală a permeabilităţii membranei pentru ioni. Această schimbare a permeabilităţii ionice a membranei postsinaptice se deplasează în lungul celulei nervoase, fiind responsabilă de propagarea influxului nervos în celula postsinaptică.

După ce şi-a îndeplinit funcţia, excesul de neurotransmiţător, de exemplu *acetilcolina,* este hidrolizat prin acţiunea unei enzime denumită *acetil-colinesterază.* Întregul proces este foarte rapid şi poate surveni într-o perioadă de timp foarte scurtă, de circa 1/100 pe secundă, *noradrenalina* este inactivată mai lent.

Prezenţa *colinesterazei* a fost decelată histoenzimologic în microveziculele aflate în apropierea membranei postsinaptice. Sinteza colinesterazei revine celulelor gliale, care limitează spaţiul sinaptic.

5.2.8. Terminaţiile nervoase receptoare

Sensibilitatea superficială şi profundă este asigurată prin *ramificaţiile dendritice* ale neuronilor senzitivi (vezi fig. 5.15). Receptorii pot înregistra diverse tipuri de excitaţii: *dureroase, termice, mecanice (presiune, tracţiune), chimice.*

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5.3. *Sinapse*
(clasificare, componente)

Categoria	Criterii de clasificare	Denumirea sinapsei	Tipuri	Componente
Sinapse chimice (prin mediatori chimici)	I. După tipul celulelor care stabilesc contacte:	a. interneuronale: b. neuro-musculare: c. neuroglandulare: d. neuroreceptoare.	-axo-dendritice -axo-somatice -axo-axonice -axon-fibră striată (placă neuromotorie) -axon-fibră netedă -axon-fibră cardiacă -dendrită-receptor	1. *Componenta presinaptică* conține: neurotubuli, neurofilamente, mitocondrii, vezicule sinaptice. 2. *Spațiul intersinaptic*, limitat de celule gliale 3. *Componenta postsinaptică* conține mitocondrii.
	II. După funcții:	a. excito-secretoare; b. inhibitoare		
Sinapse electrice (prin ioni-joncțiuni Gap)	III. După natura mediatorului:	a. colinergice b. adrenergice c. ce conțin neuropeptide		

Scanned with OKEN Scanner

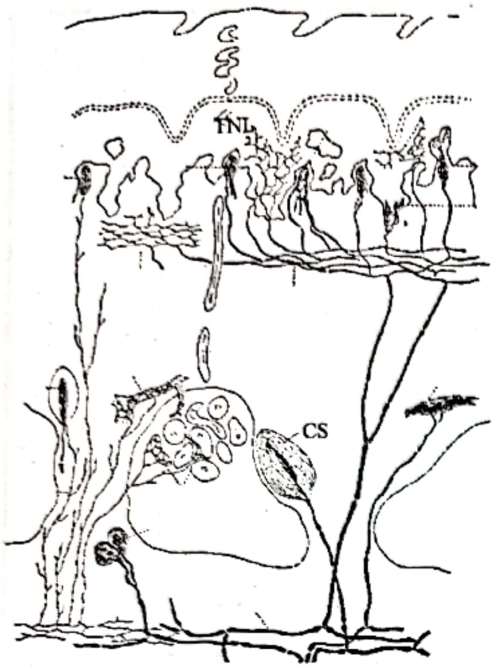


Fig. 5.20. Schema terminaţiilor nervoase din piele: terminaţii nervoase libere (TNL); corpusculi senzitivi (CS).

Pielea reprezintă o imensă suprafaţă receptoare prin *terminaţiile nervoase libere* sau *încapsulate (corpusculii senzitivi)* care se evidenţiază în structura sa (fig. 5.20).

Terminaţiile nervoase receptoare pot fi *libere* sau cuprinse în structuri conjunctivo-gliale numite *terminaţiile nervoase încapsulate – corpusculii senzitivi.*

Terminaţiile nervoase libere. Reprezintă cel mai simplu tip din punct de vedere structural, constituind arborizaţii dendritice în ţesutul epitelial, la rădăcina firului de păr, în percţii vaselor şi în ţesutul conjunctiv. Uneori aceste arborizaţii au aspectul ederiform (*meniscurile Dogiel).*

Terminaţiile nervoase încapsulate. Corpusculii senzitivi sunt localizaţi în ţesutul conjunctiv din piele (derm, hipoderm), organe interne, mucoase, muşchi şi tendoane, subperitoneal, în adventicea vaselor. Sunt formaţiuni mici, alcătuite din *terminaţia nervoasă* fără teacă de mielină, izolată de mediul extern printr-o *capsulă glioconjunctivă* formată din 2 până la 60 lame concentrice (fig. 5.21). Terminaţia nervoasă poate fi simplă sau ramificată, rectilinie sau sinuoasă; ramificaţiile sunt, de asemenea, rectilinii sau sinuoase. Criteriile morfofiziologice au stat la baza descrierii lor, fiind cunoscute mai multe categorii de corpusculi senzitivi (tabelul 5.4).

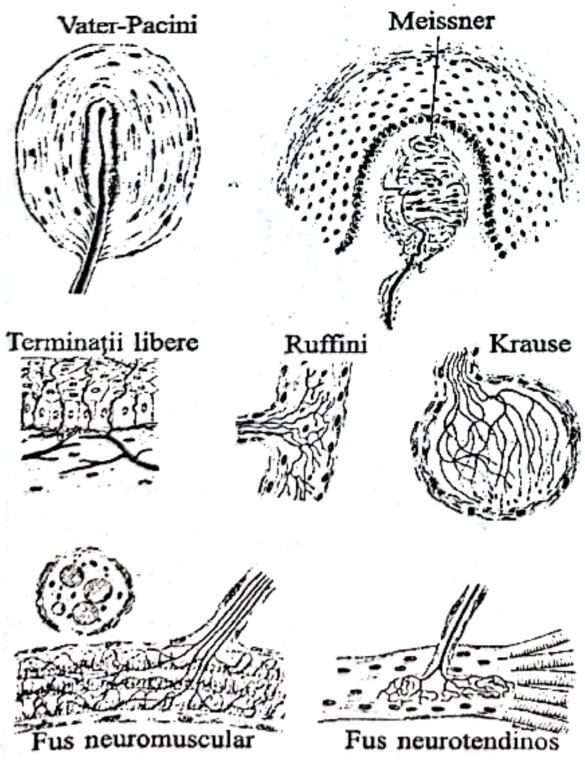


Fig. 5.21. ***Terminaţii nervoase receptoare***

Receptorii sensibilităţii profunde sunt: *proprioceptorii* şi *visceroreceptorii.*

A. Proprioceptorii asigură controlul poziţiei şi mişcărilor corpului, formarea reflexelor inconştiente. Sunt întâlniţi în muşchi, tendoane, capsulele articulare: a) *fusurile neuromusculare* (vezi 4.2.4.2) şi b) *fusurile neurotendinoase.*

Fusurile neurotendinoase, situate în vecinătatea inserţiilor musculo-tendinoase, sunt structuri încapsulate

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 5.4. ***Terminații nervoase încapsulate*** (corpusculii senzitivi)

Denumirea corpusculului	Morfologie	Specializare	Localizare
Meissner	- *Eliptic*: lungime 30-180/30-100 µm lățime - *Terminațiunea nervoasă*: helicoidală, multiramificată - *Capsula*: lame conjunctive stratificate + celule stelate intercalate între lame	- Înregistrează presiuni fine	- derm papilar, corionul mucoasei: bucale, linguale, palatine, vulvo-vaginale; țesut conjunctiv mamelonar
Golgi-Mazzoni	- *Forma*: rotund, oval, cilindric, fusiform - *Expansiunea nervoasă*: helicoidală, multiramificată - *Capsula*: subțire	- Tensioreceptor; înregistrează excitații de presiune medie și de tracțiune	- dermul pulpei digitale, palmare, plantare, organelor genitale, perimisium, peritenonium
Vater-Pacini	- *Forma*: ovală - *Terminațiunea nervoasă*: bifurcată în buton - *Capsula*: foarte groasă, formată din 20-60 lame, acoperite pe una sau pe ambele fețe cu epiteliu monostratificat poligonal și separate prin spații pline cu glicozoaminoglicani (GAG), fibre de colagen și elastice	- Mecanoreceptori pentru presiuni înalte și vibrații	- hipoderm, membrana cheratogenă a copitei, peritenonium, periost, mezenter, epiploon, alte organe (interstițiul conjunctiv, adventicea vaselor)
Krause	- *Forma*: sferoidală, cilindrică - *Fibra nervoasă*: terminată în ramificații glomerulate - *Capsula*: subțire, formată din 1-2 lame	- Specializați în recepția excitațiilor termice	- derm, corionul mucoasei linguale, conjunctivale
Ruffini	- *Fibra nervoasă*: helicoidală, emite colaterale care se anastomozează - *Capsula*: formată din 4-6 lame	-Recepționează excitații de tracțiune, deformare, căldură	–
Herbst-Grandry	- *Capsula*: groasă la corpusculii Herbst; - întâlniți numai la păsări		- pielea ciocului, glomul anocloacal, mucoase: lingvală, palatină
Genitali	- *Forma*: sferică		- derm penian, labial, clitoris

Scanned with OKEN Scanner

asemănătoare fusurilor neuromusculare. În ax se află fibre de colagen orientate longitudinal, între care se remarcă ramificaţia terminală nervoasă. Sunt *tensioreceptori.*

B. Visceroreceptorii sunt: *plexurile nervoase* şi *terminaţiile libere* din pereţii arterelor şi venelor mari, inimii, alveolelor pulmonare, funcţionează ca *baroreceptori* sau *tensioreceptori,* reglând tensiunea arterială şi mişcările respiratorii:

a) Corpusculii lamelari, situaţi în apropierea viscerelor şi a vaselor mari, sunt *baroreceptori* care reglează circulaţia.

b) Glomii (glomerulii) carotidian, aortic, anocloacal (numai la păsări) sunt formaţiuni chemoreceptoare alcătuite din celule epiteloide dispuse în grămezi (cuiburi), din care unele elaborează *catecolamine.* Celulele realizează sinapse cu ramificaţiile terminale aferente ale nervilor glosofaringian şi vag. Glomii sunt bogat vascularizaţi.

Scanned with OKEN Scanner

6. ŢESUTUL GLIAL

Unitatea morfofuncţională a ţesutului glial o constituie *nevroglia* (lat. *glia* = a lega), ce include celule care stabilesc strânse relaţii morfofiziologice cu neuronii. Nevrogliile constituie componenta interstiţială a organelor nervoase (omologul ţesutului conjunctiv) cu rol de *susţinere, protecţie, izolare, trofic, antitoxic, secretor* şi *antixenic*. Celulele nevroglice sunt *„sateliţi" perivasculari* (fig. 6.1), *perineuronali* şi *perifibrilari*. Nevrogliile preiau prin pseudopode substanţele nutritive din plasma capilarelor, le transportă şi le transferă neuronilor. În acelaşi timp, preiau produşii catabolici ai neuronului pe care îi trec în torentul sanguin.

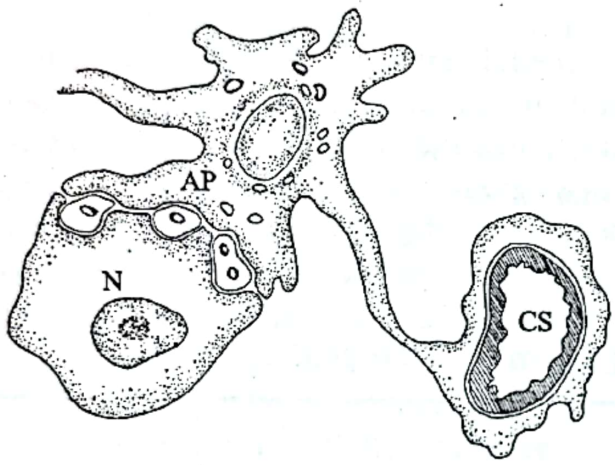


Fig. 6.1. ***Raportul dintre neuron (N), astrocit protoplasmatic (AP) şi capilarul sanguin (CS)***

Oligodendrogliile secretă teaca de mielină a fibrelor nervoase din sistemul nervos central (SNC) iar celulele Schwann elaborează teaca de mielină în sistemul nervos periferic (SNP).

Celulele gliale ependimo-ventriculare participă la elaborarea lichidului cefalorahidian.

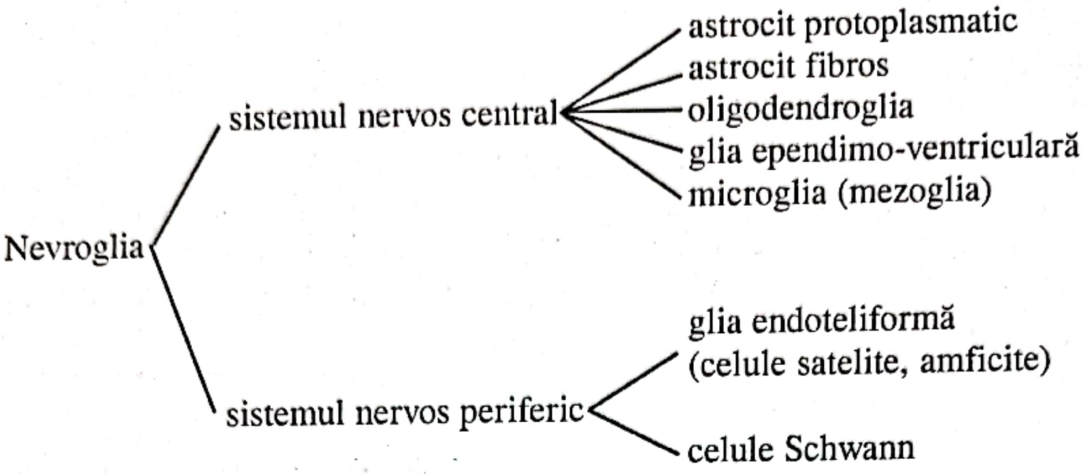
Preparatele de rutină colorate cu hematoxilină-eosină nu sunt potrivite pentru studiul nevrogliilor, deoarece prin această tehnică de colorare pot fi puşi în evidenţă numai nucleii, care se deosebesc de nucleii *celulelor nervoase* (cei ai nevrogliilor sunt mai mici şi heterocromatici, în timp ce nucleii celulelor nervoase sunt mai mari şi eucromatici). Citoplasma şi prelungirile celulelor nevroglice nu se pot distinge de cele ale celulelor nervoase.

Celulele nevroglice se evidenţiază prin tehnici speciale de impregnare argentică: Golgi, Ramon Y Cajal şi Rio Del Hortega (pentru microglie). Celulele nevroglice sunt formate dintr-un corp celular cu numeroase prelungiri, ceea ce le dă un aspect caracteristic de *„stea de mare"*. În citoplasma lor se evidenţiază *gliofilamente* (microfilamente intermediare).

Numărul celulelor gliale este mult mai mare decât al neuronilor (6-10 celule gliale pentru 1 neuron). Totuşi, deoarece nevrogliile sunt cu mult mai mici, ele ocupă doar circa 50 % din volumul ţesutului nervos.

Se descriu mai multe tipuri de nevroglii în sistemul nervos central: *astrocitele, oligodendrocitele, microgliile* şi *celulele ependimare*. În sistemul nervos periferic se găsesc nevrogliile-*satelite (amficitele)* din ganglionii periferici şi *celulele Schwann* (tabelul 6.1). *Astrocitele* şi *oligodendrocitele* sunt denumite împreună *macroglii*.

Scanned with OKEN Scanner



Aspectul moale de „piftie" al sistemului nervos central este dat de faptul că ţesutul său de susţinere este reprezentat de o structură complexă cu consistenţă de „clei" (nu de ţesut conjunctiv), constituită din celule gliale şi prelungirile acestora. Celulele nevroglice derivă din ectoderm, singura celulă care derivă din mezoderm este microglia, care face parte din sistemul macrofagic-monocitar (SMM) şi care alături de celula Schwann, fagocitează în sistemul nervos.

Tabelul 6.1. ***Clasificarea celulelor gliale***

Criterii de clasificare	Tipuri
1.După origine	Nevroglii de origine ectoblastică Nevroglii de origine mezoblastică
2.După dimensiunea pericarionului	Macroglie Microglie
3.După topografie	Glie centrală (protoplasmatică, fibroasă, oligodendroglie, ependimo-ventriculară, microglie) Glie periferică (celula glială Schwann, glia endoteliformă) Glia fibroasă – în substanţa albă Glia protoplasmatică – în substanţa cenuşie
4.După morfologia pericarionului şi a prelungirilor	Glia ependimo-ventriculară Oligodendroglia Glia endoteliformă
5.După funcţii	Glia Schwann - mielogeneză Microglia - fagocitoză Glii cu rol trofic Glii cu rol de apărare

Scanned with OKEN Scanner

Nevrogliile sunt celule mici, formate din *pericarion* şi *prelungiri*, care nu se diferenţiază în dendrite şi axoni. În citoplasma celulelor gliale se evidenţiază organite citoplasmatice corespunzătoare funcţiilor specifice: *mitocondriile* în gliile protoplasmatice, *ergastoplasma* în nevrogliile Schwann şi *oligodendroglii* (celule mielinoformatoare), *lizozomii* în microglii (elemente ale SMM). Organitele specifice nevrogliilor sunt *gliofilamentele (microfilamente intermediare)*, dispuse atât în corpul, cât şi în prelungirile celulelor, numeroase în celulele gliale fibroase, datorită funcţiei de susţinere. Incluziile de *glicogen, lipide* şi *pigmenţi* sunt, de asemenea, prezente în citoplasma celulelor gliale.

Prelungirile gliale constituie criteriul morfologic dominant în determinarea tipului de nevroglie: *lungi, subţiri, slab ramificate*, la glia fibroasă; *scurte, groase, multiramificate*, la glia protoplasmatică; *puţine, cu nodozităţi*, la oligodendroglie, *cu ramificaţii* principale lungi şi fine de pe care se desprind numeroase ramificaţii secundare, asemănătoare unor ţepi – *microglia.*

În substanţa cenuşie (a sistemului nervos central - SNC), *corpul neuronilor* şi *nevrogliile* sunt înconjurate de o ţesătură de fibre nervoase şi de prelungiri nevroglice care dau consistenţă întregii mase de materie cenuşie. Această ţesătură de fibre este alcătuită în cea mai mare parte din prelungirile dendritice şi porţiunea proximală a axonilor care *nu* sunt mielinizaţi. ţesătura de fibre distribuită printre pericarionii din substanţa cenuşie este cunoscută sub denumirea de *neuropil,* datorită ţesăturii sale în formă de pâslă (gr. *pilos* = pâslă). Între membranele plasmatice ale neuronilor şi cele ale prelungirilor nevroglice se află un spaţiu de circa 20 nm, prin care circulă un lichid similar cu lichidul cefalorahidian.

Între sistemul circulator şi fluidul intercelular din SNC există *bariera hematoencefalică,* care este structurată din:

a) endoteliu capilar;

b) lama formată de picioruşele astrocitelor, din jurul capilarelor (fig. 6.2).

Principalele particularităţi morfologice ale endoteliilor capilarelor din sistemul nervos, care constituie substratul ultrastructural al barierei, sunt: a) joncţiunile strânse dintre celulele endoteliale care formează o barieră continuă, şi b) absenţa sau numărul foarte redus al veziculelor transportoare în celulele endoteliale.

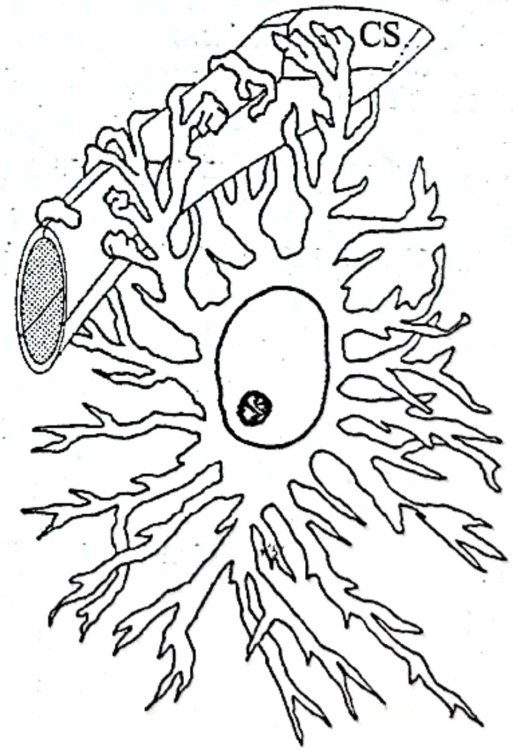


Fig. 6.2. ***Picioruşele astrocitelor care înconjură capilarul sanguin (CS)***

Scanned with OKEN Scanner

Peretele capilar neîntrerupt constituie substratul morfologic al barierei hematoencefalice. Trebuie subliniat faptul că în encefal, substanţele nutritive traversează cu uşurinţă această barieră datorită unor sisteme de transport bine puse la punct în sistemul nervos (transportori specifici pentru molecule nutritive).

S-a constatat că *solubilitatea lipidică* este factorul cel mai puternic pentru ca o substanţă să traverseze bariera hematoencefalică. Moleculele solubile în lipide străbat cu uşurinţă bariera şi pătrund în encefal. Între aceste molecule se află *nicotina, etanolul* şi *heroina*, fapt ce ne permite să înţelegem de ce aceste substanţe sunt atât de dăunătoare.

Trebuie subliniat că există în encefal zone mici în care endoteliile capilarelor vasculare prezintă totuşi discontinuităţi sau canale (nu formează bariere hematoencefalice ca în restul encefalului) care permit substanţelor din sânge să ajungă în spaţiul intercelular parenchimatos. Printre zonele fără barieră hematoencefalică se remarcă *epifiza, hipofiza* şi *unele zone din hipotalamus*. Absenţa barierei în aceste zone lasă deschisă calea hormonilor care circulă în sânge (inclusiv cei secretaţi în regiunile respective) să vină în contact cu neuronii endocrini din encefal, închizând astfel lanţul care constituie substratul reglării prin *feed back* a sistemului neuroendocrin.

6.1. Celulele gliale

În fig. 6.3. sunt redate celulele nevroglice.

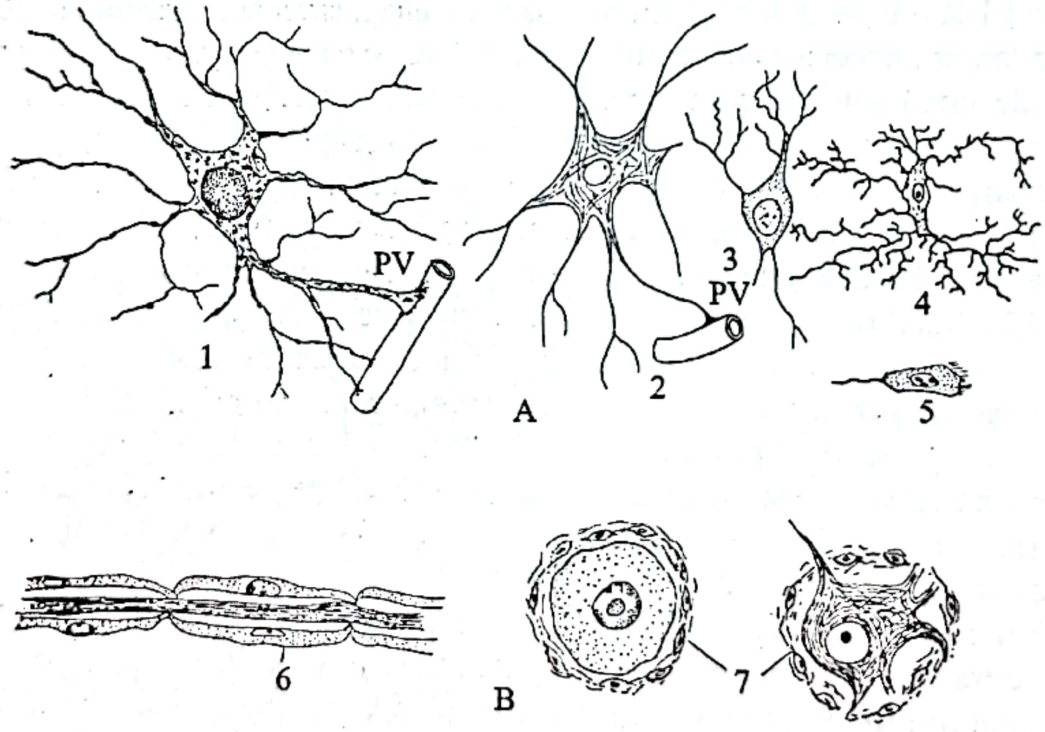


Fig. 6.3. ***Celulele nevroglice*** : A-nevroglia sistemului nervos central : 1-astrocit protoplasmatic ; PV-picioruş perivascular ; 2-astrocit fibros ; 3-celulele oligodendrogliei ; 4-mezoglia ; 5-glia ependimo-ventriculară. B-nevroglia periferică : 6-celulele Schwann ; 7-celule satelite-amficite.

Astrocitele reprezintă 20 % din celulele nevroglice ale sistemului nervos central. Aceste celule sunt cele mai mari nevroglii, cu prelungiri numeroase şi lungi. Ele au nucleu sferic, localizat central, slab colorat. La ME, astrocitele se remarcă prin citoplasma relativ clară, mai săracă în organite şi bogată în *microfilamente intermediare (gliofilamente)*, de fapt prezente în toate celulele nevroglice. Unele din prelungirile lor au pediculi extinşi care se ataşează *de peretele capilarelor sanguine.* Aceste prelungiri, denumite *„pediculi vasculari nevroglici"*, înconjură complet într-o teacă toate vasele care pătrund în ţesutul nervos pentru a-l hrăni. Prelungirile astrocitare sunt, de asemenea, prezente la periferia sistemului nervos central, formând un strat sub *piamater.* Acest strat, care mai cuprinde prelungiri şi de la alte tipuri de nevroglii, separă ţesutul conjunctiv al piamater-ului de celulele nervoase. În mod curent se deosebesc două tipuri de astrocite : *a) protoplasmatice,* care se găsesc în substanţa cenuşie a sistemului nervos central, şi *b) fibroase,* care se găsesc în principal în substanţa albă.

Astrocitul protoplasmatic este localizat în substanţa cenuşie a sistemului nervos central. Are o formă stelată (aspect de paianjen), cu dimensiunea de 20-25 μm, colorat în brun-negru, cu nucleul sferic aşezat central şi cu numeroase prelungiri *scurte, groase* şi *multiramificate*. Unele din aceste prelungiri vin în contact intim cu peretele capilarelor sanguine, prezentând la locul de contact o formaţiune numită *picioruş perivascular*.

Astrocitul fibros intră în structura substanţei albe a sistemului nervos central. Are o formă stelată, este mai mic decât cel protoplasmatic şi cu prelungiri *lungi, subţiri, netede* şi *puţin ramificate*. Una sau mai multe prelungiri ale acestor celule iau contact cu capilarele sanguine prin îngroşări ale extremităţilor, formând *picioruşe perivasculare*.

Oligodendroglia (de la grec. *oligos* = puţin ; *dendros* = arbore). Oligodendrocitele reprezintă majoritatea celulelor gliale din sistemul nervos central – *circa 75 %* din totalul gliocitelor. Ele sunt mult mai mici decât astrocitele şi prelungirile lor sunt *rare* şi *mai scurte* decât cele prezente în alte tipuri de nevroglii. Este o celulă cu puţine prelungiri, întâlnită atât în substanţa cenuşie ca satelit al pericarionului, cât şi în substanţa albă, ca satelit perifibrilar ; pentru fibra nervoasă centrală secretă *mielina* şi formează o *teacă de protecţie*, sinonimă tecii Schwann.

Citoplasma oligodendrocitelor este densă la fluxul de electroni şi constă în principal din *mitocondrii, ribozomi, microtubuli şi gliofilamente.* Aceste caractere permit identificarea lor pe imaginile de la ME.

Glia ependimo-ventriculară este adaptată morfofuncţional *pentru funcţia de protecţie* (căptuşeşte şi tapetează canalul ependimar şi ventriculii cerebrali), ca şi pentru *funcţiile de secreţie – resorbţie* a lichidului cefalo-rahidian la nivelul plexurilor coroide. Celulele ependimare derivă din stratul intern al tubului neural şi păstrează aşezarea epiteliilor. Celulele ependimare au un aspect epitelial, fiind cubice sau prismatice, cu dimensiunea de 15-20 μm, nucleul situat bazal, iar la polul apical

Scanned with OKEN Scanner

prezintă *cili*. Polul bazal este reprezentat de o expansiune lungă a citoplasmei, adesea ramificată, care pătrunde în substanţa nervoasă adiacentă. La ME, în regiunea apicală se remarcă *microvilozităţi, cili* şi *desmozomi*, iar în citoplasmă se remarcă organite bine dezvoltate implicate în elaborarea lichidului cefalo-rahidian, mai ales la celulele care tapetează plexurile coroide.

Microglia (mezoglia) reprezintă 5 % din nevrogliile sistemului nervos central. Corpul celulelor microgliale este *mic, dens* şi *alungit* (fig. 6.4). Nucleii lor prezintă cromatina foarte condensată şi o formă alungită în sensul axului mare al corpului celular. Forma nucleilor microgliilor permite identificarea lor în preparatele colorate cu hematoxilină-eosină, deoarece celelalte nevroglii au nuclei sferici. Microglia are prelungiri scurte, acoperite de expansiuni mici, ce le dă un aspect spinos. Microgliile nu sunt numeroase, dar sunt prezente atât în substanţa albă cât şi în substanţa cenuşie a sistemului nervos central.

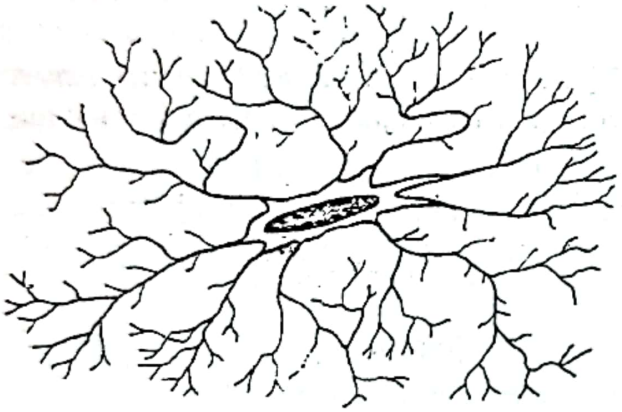


Fig. 6.4. ***Microglia***

Microglia derivă din mezoderm şi aparţine sistemului macrofagic-monocitar (SMM). În substanţa cenuşie formează *sateliţi perineurali*, iar în substanţa albă formează *sateliţi perifibrilari*.

Microglia are capacitatea de *mobilizare* şi *fagocitoză*. Ea are rol important în procesele de curăţire a detritusurilor celulare şi fagocitează atât neuronii uzaţi sau degeneraţi (*neuronofagie*), cât şi picăturile lipidice provenite din dezintegrarea mielinei (în acest caz formează *corpii rotunzi granulo-grăsoşi ai lui Glügge*).

Microgliile sunt principalele celule fagocitare din encefal; ele se prezintă sub două forme: *a) celula amoeboidală,* similară morfologic cu macrofagul, este prezentă în cursul dezvoltării creierului şi apare în leziunile cerebrale la adult; *b) celula ramificată,* considerată *„în repaus"*, prezentă în sistemul nervos central normal la adult. Cercetări recente de histochimie şi de microscopie electronică sugerează că microglia amoeboidă este o *celulă fagocitară activă* care, eventual, se diferenţiază în celula *ramificată de repaus*.

Microgliile secretă un polipeptid denumit *factor de proliferare glială*. Acesta stimulează proliferarea astrocitelor şi oligodendrocitelor în cursul gliogenezei *in vivo*, precum şi pe parcursul formării cicatricelor gliale, ca urmare a unor leziuni nervoase.

Glia endoteliformă este reprezentată de celulele *„satelite"* (*amficite*) ale neuronilor din ganglionii rahidieni şi simpatici. Ele formează în totalitate o capsulă protectoare în jurul pericarionilor.

Celula Schwann *este celula „satelită" fibrei nervoase periferice şi este implicată în formarea tecii de mielină (vezi 5.2.6).*

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. **Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson D. J.** – Molecular biology of the cell. 3-ed. Garland Publishing Inc., New York, London, 1994.
2. **Angelescu V.** – Embriologie normală şi patologică, Editura Academiei RSR, Bucureşti, 1983.
3. **Ardelean V.** – Reproducţia animală, Ed. Agroprint, Timişoara, 1998.
4. **Austin C. R., Short E. V.** – Reproduction in mammals, Editura Cambridge, 1972.
5. **Austin C. R.** – Fecundaţia, Editura Agro-Silvică, Bucureşti, 1982.
6. **Bacha J. Jr., Wood L. M.** – Color atlas of veterinary histology. Lea and Febiger, Beckembaum, 1990.
7. **Baciu I.** – Fiziologie, Ed. Did. şi Ped., Bucureşti, 1977.
8. **Bankroft J. D., Stevens A.** – Theory and practice of histology, 2nd ed. Churchill Livingstone, 1990.
9. **Banks W. J.** – Applied veterinary histology. 3rd Edition. Willliams Wilkins Baltimore, London, Los Angeles, Sydney, 1992.
10. **Bareliuc Lucia, Neagu Natalia** – Embriologie umană, Editura Medicală, Bucureşti, 1977.
11. **Bareliuc Lucia, Neagu Natalia** – Elemente de embriologie comparată, Editura Medicală, Bucureşti, 1981.
12. **Barrit G. J.** – Communication within animal cell. Oxford Univ. press, 1992.
13. **Benga Gh.** – Biologie celulară şi moleculară, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1985.
14. **Bogdan A., Bistriceanu M., Majina C.** – Reproducţia animalelor de fermă, Editura Scrisul românesc, Craiova, 1981.
15. **Bogdan A. T., Târnoveanu I., Salanţiu Dorina** – Fertilitatea, natalitatea şi prolificitatea în zootehnie. Vol. I, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1984.
16. **Bogdan A. T., Mantea St., Bogdan Dorina** – Tratat de reproducţie şi însămânţări artificiale la suine. Editura Tehnică Agricolă, Bucureşti, 1999.
17. **Boitor I.** – Reproducţia normală şi patologică la taurine, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1977.
18. **Boitor I.** – Endocrinologia reproducţiei la animalele de fermă, Editura Ceres, Bucureşti, 1979.
19. **Boitor I.** – Fiziologia şi fiziopatologia reproducţiei la animalele de fermă, Ed. Ceres, Bucureşti, 1985.
20. **Boitor I., Seiciu Fl., Muntean M., Bogdan A. T.** – Actualităţi şi perspective în diagnosticul şi tratamentul bolilor obstetricale şi ginecologice la taurine. Tipo Agronomia Cluj-Napoca, 1989.
21. **Boitor I., Bogdan L., Chiţulescu Cătălina, Groza I., Moise D., Morar I., Ingeborg B.** – Cercetări privind eficacitatea unor produse homeopatice şi unele tulburări de reproducţie la vacă. Clujul medical veterinar, nr. 4, 1994.
22. **Botărel S., Cotea C., Gaboreanu M.** – Histologie şi embriologie medicală veterinară, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1982.
23. **Bruce Alberts şi colab.** – Molecular Biology of the cell. Garland Publishing Inc. New York – London, 1983.
24. **Burkitt H. G., Young B., Heath W. J.** – Wheater's functional histology. A text and colour atlas. Third Edition, Churchill Livingstone, 1993.
25. **Cârsteanu Mioara, Vlădescu C.** – Colagenul, biochimie şi fiziologie, Ed. Academiei R.S.R., Bucureşti, 1982.

Scanned with OKEN Scanner

26. **Cîrlan M.** – Elemente de genetică animală normală, Ed. Polirom Iaşi, 1996.
27. **Coman I., Popescu D.** – Micoze şi micotoxicoze. Ed. Ceres, Bucureşti, 1984.
28. **Coman I., Mareş M.** – Micologie medicală aplicată. Ed. Junimea, Iaşi, 2000.
29. **Coman T.** – Biologie celulară, Editura Fundaţiei „România de Mâine", Bucureşti, 1995.
30. **Coman T., Cornilă N.** – Embriologie veterinară, Ed. Fundaţiei „România de Mâine", Bucureşti, 1999.
31. **Comănescu Geanina** – Elemente de morfologie animală (anatomia tractusului digestiv la păsări). Ed. Univ. „Alexandru Ioan Cuza" Iaşi, 1997.
32. **Cornilă N., Manolescu N.** – Structura şi ultrastructura organelor la animalele domestice, Editura Ceres, 1995.
33. **Cornilă N.** – Morfologia microscopică a animalelor domestice, vol. I, Ed. BIC ALL, Bucureşti, 2000.
34. **Cotea C.** – Morfofiziologia glandei interstiţiale în ovarul de oaie. Teză de doctorat, Inst. Agronomic Timişoara, 1973.
35. **Cotea C.** – Histologie-Embriologie, vol. I, Lito., Inst. Agronomic Iaşi, 1979.
36. **Cotea C.** – Histologie-Embriologie, vol. II, Lito., Inst. Agronomic Iaşi, 1980.
37. **Cotea C.** – Consideraţii morfologice şi histochimice în axul hipotalamo-hipofizo-ovarian la ovine (*Ovis aries*) în estrus. Lucr. şt. Inst. Agr. Iaşi, II, Zoot. Med. Vet., 26, p.37 – 38, 1982.
38. **Cotea C.** – Lucrări practice de Histologie-Embriologie, Lito., Inst. Agronomic Iaşi, 1984.
39. **Cotea C., Costandache I., Axente D. F., Dimitriu V.** – Contribuţii la cunoaşterea morfologiei şi histochimiei foliculogenezei din ovarul suinelor femele din rasa Marele alb. Cercet. agr. în Moldova, 4 (72), p. 123 – 126, 1985.
40. **Cotea C., Creţu P., Axente D. F., Creţu Doina, Dimitriu V.** – Morfologia tubilor seminiferi din testiculul suinelor din rasa Marele alb în vârstă de 1 –170 zile. Cercet. agr. în Moldova, 4 (84), p. 101 – 103, 1988.
41. **Cotea C., Costandache I., Creţu P., Axente D. F., Dimitriu V.** – Aspecte morfologice şi histochimice ale foliculogenezei din ovar, în corelaţie cu dinamica celulară din adenohipofiză la scrofiţele din rasa Landrace. Lucr. şt. Inst. de cercetare şi prod. pentru creşterea porcilor Periş, vol. IV, p. 201 – 209, 1988.
42. **Cotea C.** – Biologie celulară. Institutul Agronomic «Ion Ionescu de la Brad» Iaşi, 1990.
43. **Cotea C., Costandache I., Axente D. F., Dimitriu V.** – Morfologia compartimentului exocrin al testiculului suinelor din rasa Landrace în vârstă de 1 – 280 zile. Lucr. şt., vol. 34, seria Zoot. Med. Vet., p. 119 – 121, 1991.
44. **Cotea C., Costandache I., Axente D. F., Tănase E.** – Morfologia şi histochimia glandei interstiţiale Leydig din testiculul suinelor din rasa Landrace în vârstă de 1 – 280 zile. Lucr. şt., vol. 35, 36, seria Zoot. Med. Vet., p. 339 – 341, 1992.
45. **Cotea C., Pintea V.** – Citochimia glandei interstiţiale în explante de foliculi ovarieni de oaie în estrus, după stimularea "in vitro" cu LH ovin. Simpozionul ştiinţific cu participare internaţională "Probleme de patologie animală", p. 39, Timişoara, 5 – 7 nov., 1992.
46. **Cotea C.** – Corelaţii morfo-citochimice între foliculogeneză şi glanda interstiţială din ovarul de puicuţă (7 – 180 zile). Sesiunea ştiinţifică anuală de Medicină Veterinară, p. 3, Iaşi, 26 – 27 nov., 1992.
47. **Cotea C.** – Biologie celulară, Histologie şi Embriologie. Curs, Institutul Agronomic «Ion Ionescu de la Brad» Iaşi, 1992.

Scanned with OKEN Scanner

48. **Cotea C., Coman I.** – Cercetări cu privire la foliculogeneza din ovarul tineretului cunicul crescut în condiţii de aeroionizare negativă. Simpozionul "30 de ani de învăţământ medical veterinar la Iaşi", p. 33, Iaşi, 22 – 23 nov., 1993.
49. **Cotea C.** - Contribution to the knowledge of the morphology and cytochemistry of the interstitial gland in the ovary of Plymouth rock poulet 90 – 180 days. Patologia animalelor domestice, vol. XX, p. 64 – 65, Cluj-Napoca, oct., 1993.
50. **Cotea C.** – Morphology and cytochemistry of seminiferous tubules of the testis in the corelation with the dynamics of the glicoprotidic cells in the adenohypophysis of the Large white at the age of 1 – 280 days. Patologia animalelor domestice, vol. XX, p. 65. Simpozionul Cluj-Napoca, oct., 1993.
51. **Cotea C., Şerban Carmen** – Vitelogeneza în ovarul puicuţelor din rasa Leghorn în vârstă de 7 – 180 zile, Simp. Iaşi, 25 – 26 nov., p. 18, 1994.
52. **Cotea C., Runceanu L.** – Aspectele morfologice şi citochimice ale gametogenezei la ovinele femele stimulate hormonal. Simp. Iaşi, 25 – 26 nov., p. 18, 1994.
53. **Cotea C., Arseni O.** – Foliculogeneza în ovarul suinelor femele. Lucr. şt. Med. Vet. Iaşi, vol. 41, pag. 13 – 23, 1998.
54. **Cotea C., Solcan Carmen, Cotea I., Arseni O.V.** - Zona pellucida în cadrul ovogenezei din ovarul suinelor femele din rasa Marele alb. Lucr. şt. Med. Vet. Iaşi, vol. 2 (43), p.8-13, 2000.
55. **Cotrutz C.** – Curs de biologie celulară, Lito, Institutul de Medicină şi Farmacie Iaşi, 1985.
56. **Cotrutz Carmen-Elena, Cotrutz C.** – Celulele entero-endocrine trecut, prezent, viitor, Editura Apollonia, Iaşi, 1998.
57. **Cotrutz Carmen-Elena, Cotrutz C., Ionescu C. R., Petreuş T., Bălţătescu Minodora, Medrihan Monica** – Cell and molecular biology. Ed. Apollonia, 1998.
58. **Cotuţiu C., Stanciu Jeni** – Histologie. Lito, Institutul de Medicină şi Farmacie Iaşi, 1986.
59. **Cotuţiu C., Dobre S.** – Elemente de Imunologie stomatologică, Ed. Apollonia, Iaşi, 1997.
60. **Coţofan Otilia** – Morfopatologie generală.Curs. Univ. Agr. Iaşi, 1992.
61. **Coţofan V., Palicica R., Hriţcu Valentina, Enciu V.** – Anatomia animalelor domestice, vol. I, Ed. Orizonturi Universitare Timişoara, 1999.
62. **Dellmann D. H.** – Veterinary histology an outline text-atlas, Lea Febiger, Philadelphia, 1971.
63. **Dellmann D. H., Brown E. M.** – Text book of veterinary histology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1993.
64. **Dettlaff T. A., Vasetzky S. G.** – Oocyte growth and Maturation. Plenum Press, New York, London, 1998.
65. **Diculescu I., Onicescu Doina, Rîmniceanu Constanţa** – Histologie, vol. I şi II, Ed. Didactică şi Pedagogică, Bucureşti, 1970, 1971.
66. **Diculescu I., Onicescu Doina, Mischiu Letiţia** – Biologie celulară, Ed. Acad. R.S.R., 1971.
67. **Diculescu I., Onicescu Doina, Benga Gh., Popescu L.** – Biologie celulară. Ed. Did. şi Ped., Bucureşti, 1983.
68. **Diculescu I., Onicescu Doina, Popescu L., Popescu M., Vidulescu Cristina** - Histologie medicală, vol. I, Ed. Medicală, Bucureşti, 1987.
69. **Dobrescu Gioconda, Gheorghiu Toni, Bârsu Marina** – Histologie. I.M.F. Iaşi, 1990.
70. **Drăgoi I., Crişan C.** – Elemente de histologie şi tehnica microscopică, Ed. H. Welther, Sibiu, 1946.
71. **Dubreull G., Baudrimont A.** – Manuel théoretique et pratique d'histologie, Viget Fréres, Editure Paris, 1959.

Scanned with OKEN Scanner

102. **Jensen W., Park R.** – Cell Ultrastructure, Wadasworth, California, 1967.
103. **Junqueira L. C., Carneiro J., Iielley R. O.** – Basic Histology. 9 ed., Appleton and Lange, Stamford, Connecticut, 1998.
104. **Kaafman P., King B. F.** – Structural and functional organization of the placenta, Bibl. anat. 22, 1982.
105. **Katznelson S. Z., Richter D. I., Lindner D., Sajonski H.** – Anleitung zum histologischen und embryologischen kursus für veterinärmediziner, S. Hirzel Verlag Leipzig, 1962.
106. **Kjellen L., Lindhai U.** – Proteoglicans: structures and interaction, Annu. Rev. Biochem., 60, 443-475, 1991.
107. **Kreindler A.** – Structura şi funcţiile sistemului nervos central. Ed. Academiei R.S.R., Bucureşti, 1976.
108. **Krstic R. V.** – General Histology of the mammal. Berlin, Heidelberg, New-York, Tokio, 1985.
109. **Liebich H. G., Böck P., Budras K. D., Maierl J., Reese S.** – Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. Schattauer Stuttgard, New York, 1999.
110. **Lesson S., Lesson Th. R. C.** – Histologie, Masson et C^ie^ Paris, 1971.
111. **Lonergan P.** - Growth of preimplantation bovine embrions, Acta Vet. Scandinavica, 35 (4), 307-320, 1994.
112. **Lucht U.** – The ultrastrucure of osteoclasts under normal and experimental conditions, Aarhus, 1974.
113. **Macovschi E.** – Biostructura. Ed. Academiei R.S.R., Bucureşti, 1969.
114. **Manolescu N.** – Cito-morfologia hematoformatoare şi a leucocitoconcentratului la animale. Ed. Ceres, Bucureşti, 1976.
115. **Manolescu N., Avram N., Begnescu R., Bucur E., Ciocnitu V., Lungeanu Agripina, Păltineanu D., Păunescu Gh., Ştirbu C., Voiculescu I.** – Citologia normală şi patologică la animale. Ed. Ceres, Bucureşti, 1980.
116. **Manolescu N., Diculescu I., Coţofan V.** - Histologie comparată în scanning (SEM). Ed. Ceres, Bucureşti, 1982.
117. **Manolescu N., Moraru I.** – Histopatologie comparată în scanning (SEM). Ed. Ceres, Bucureşti, 1985.
118. **Manolache Viorica** – Histologie şi embriologie animală. Universitatea Bucureşti, Facultatea de Biologie, 1990.
119. **Marcu Elena, Pavel Geta** – Fiziologie, Ed. Vasiliane Iaşi, 1999.
120. **Mariano S. H. Di Fiore** – Atlas of normal histology, Lea-Febiger, Philadelphia-London, 1987.
121. **Meyers A. R.** – Molecular biology and biotechnology. A comprehensive desk reference. VCH Publishers, Inc. New York, 1995.
122. **Mircu C., Cernescu H., Ardelean V., Bonca Gh., Igna Violeta, Şerban C.** – Potenţialul imunocontraceptiv al zonei pellucida. Revista Română de Medicină Veterinară, vol. 9, p. 347-362, 1999.
123. **Mosimann W., Kohler T.** – Zytologie, Histologie und mikroscopische Anatomie der Haussaugetiere. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg, 1990.
124. **Motta P. M.** – Ultrastructure of Endocrine Cells and Tissues. Mijhoff, Boston, 1984.
125. **Muntean M., Groza I.** – Elemente de fiziologia reproducţiei la animale, Editura Genesis Tipo Cluj-Napoca, 1998.

Scanned with OKEN Scanner

Corneliu V. COTEA

Premiul **„Copyro”**, 2002
Premiul **„Ion Ionescu de la Brad”** al ***Academiei Române***, 2003
Premiul **„Opera Omnia”** al ***Consiliului Naţional al Cercetării Ştiinţifice din Învăţământul Superior***, pentru întreaga activitate de cercetare ştiinţifică, 2004

Lucrarea de faţă încearcă să sintetizeze literatura de specialitate în domeniul biologiei celulare, histologiei şi embriologiei la mamifere şi păsări. Aşa cum este întocmită, prezenta carte vine în întâmpinarea exigenţelor pe care le ridică învăţământul universitar şi cercetarea ştiinţifică în medicina veterinară.

ISBN 973-8048-58-3

Scanned with OKEN Scanner